Estratto dalla " Rivista di Patologia nervosa e mentale "
Anno XV, fasc. 11

Istituto psichiatrico e neuropatologico della R. Università di Modena
diretto dal Prof. E. Lugaro.

Le pseudoplasmacellule in alcune leucocitosi ed encefaliti sperimentali, con osservazioni sulla morfologia delle plasmacellule.

Ricerche del dott. **G. Papadia**, Aiuto.

(Con le tav. XIII e XIV)



FIRENZE
TIPOGRAFIA GALILEIANA
54 — Via San Zanobi — 54
—
1910

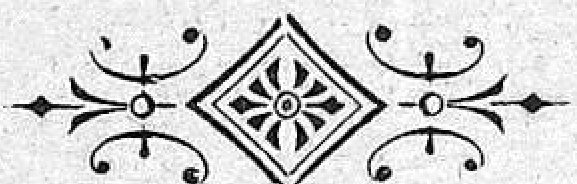
Estratto dalla " Rivista di Patologia nervosa e mentale "
Anno XV, fasc. 11

Istituto psichiatrico e neuropatologico della R. Università di Modena
diretto dal Prof. E. Lugaro.

Le pseudoplasmacellule in alcune leucocitosi ed encefaliti sperimentali, con osservazioni sulla morfologia delle plasmacellule.

Ricerche del dott. **G. Papadia**, Aiuto.

(Con le tav. XIII e XIV)



FIRENZE
TIPOGRAFIA GALILEIANA
54 — Via San Zanobi — 54
—
1910

Istituto psichiatrico e neuropatologico della R. Università di Modena diretto dal prof. E. Lugaro.

Le pseudoplasmacellule in alcune leucocitosi ed encefaliti sperimentali, con osservazioni sulla morfologia delle plasmacellule.

Ricerche del dott. **G. Papadia**, Aiuto.

(Con le tav. XIII e XIV).

Tra gli elementi del tessuto di granulazione infiammatoria vi è una categoria di cellule, che hanno l'aspetto morfologico dei grandi leucociti mononucleati, e che presentano un protoplasma più o meno ricco e spiccatamente basofilo. Esse compaiono sin dagli stadî più precoci della infiammazione. Eguali elementi sono stati pure osservati in svariate leucocitosi sperimentali. Per ragione della basofilia del loro protoplasma queste cellule sono state da varî autori considerate senz'altro come plasmacellule. Altri osservatori invece con ricerche più accurate hanno messo in evidenza speciali caratteri differenziali, per i quali gli elementi anzidetti sono da tenere ben distinti dalle plasmacellule.

Poichè questa questione è tuttora aperta ed anzi, in base a studi recentissimi, le due tesi opposte sono state ribadite in forma sempre più recisa, ho creduto opportuno ripetere le varie esperienze fondamentali su cui i pareri opposti si basano ed eseguirne altre diverse, in modo da farmi un'opinione diretta in proposito e cercare di rintracciare possibilmente l'origine di un dis-

senso, che partendo da osservazioni di fatto passa, accentuandosi, nel campo delle ipotesi sull'origine delle plasmacellule e sul loro valore nei processi infiammatorî.

Ho provocato le iperleucocitosi con iniezioni di tubercolina oppure di siero di sangue eterogeneo. Le encefaliti sono state prodotte con tubercolina, tossina difterica, tossina tetanica, formolo, ammoniaca, bacilli tubercolari.

Leucocitosi artificiali. — Nel 1895 von Marschalkò (26), determinando in conigli una leucocitosi artificiale per mezzo di iniezioni sottocutanee di gr. 0,25-0,50 di tubercolina, riscontrò già dopo 24 ore nella polpa splenica numerosi elementi, che egli considerò come « plasmacellule stupendamente colorate con tutte le loro forme di passaggio dai semplici linfociti alle plasmacellule grandi e completamente sviluppate ». Elementi eguali riscontrò anche nei capillari dilatati e ripieni di corpuscoli rossi e nelle sezioni trasverse dei vasi più grandi tra i corpuscoli rossi e bianchi, per cui ritenne che si dovesse porre fuor di dubbio l'origine delle plasmacellule dai leucociti.

Ad analoga conclusione giunge Cerletti (6). Iniettando siero di sangue umano nelle vene del coniglio, egli ha potuto riscontrare pochissimo tempo dopo nel lume dei vasi sanguigni della corteccia cerebrale, nel contenuto sanguigno di vene legate e fissate, nei coaguli sanguigni e negli organi ematopoietici, specialmente nella milza e nelle ghiandole linfatiche, degli elementi, che egli considera come plasmacellule tipiche.

Le mie esperienze sulle leucocitosi artificiali in parte furono eseguite nelle stesse condizioni di quelle di Marschalkò e di Cerletti. Iniettai a due conigli per la via sottocutanea mezzo grammo di tubercolina Koch (Merck) uccidendoli rispettivamente 24-48 ore dopo l'iniezione. Ad altri tre conigli iniettai nella vena marginale dell'orecchio 4 $cm.^3$ di siero di sangue umano (paralisi progressiva), sacrificandoli tre ore dopo. Ma volli inoltre vedere quali risultati si avevano con iniezioni ripetute di tubercolina, se si poteva cioè determinare una più abbondante e più tipica produzione di plasmacellule non solo nel lume dei vasi, ma anche in altri organi. A questo scopo feci a sei conigli giovani di piccolo peso (gr. 700-800) iniezioni endovenose quotidiane di tubercolina Koch cominciando colla dose di $cm.^3$ 0,2 ed aumentandola ogni 5 giorni di $cm.^3$ 0,1. Tre di essi furono sacrificati dopo quindici giorni, gli altri tre dopo venti. Di tutti questi animali furono fissati in alcool assoluto pezzi di milza, di corteccia cerebrale, di midollo spinale, di fegato, di muscolo e tratti di tronchi venosi (cava inferiore, giugulare) compresi tra due legature. La colorazione usata fu quella di Pappenheim-Unna con pironina e verde di metile, operando su sezioni libere.

Non starò a fare una descrizione dettagliata dei reperti microscopici di ogni singolo animale d'esperimento. Basti dire che in tutte queste esperienze potei constatare nel sangue circolante e nella milza la presenza di elementi cellulari a protoplasma basofilo, che sono appunto quelli che c'interessano e dei quali dobbiamo minutamente prendere in considerazione i caratteri mor-

fologici e tintoriali. Queste cellule si osservano anche nella milza di conigli normali, non però così abbondanti come in seguito alle iniezioni di tubercolina o di siero di sangue eterogeneo. Negli animali iniettati, la loro iperproduzione nella milza è provata non solo dal grande numero, ma anche dalla presenza di figure cariocinetiche specialmente abbondanti nella milza dei conigli trattati con iniezioni ripetute di tubercolina. Negli altri organi esaminati, queste cellule a protoplasma basofilo non si riscontrano mai fuori del lume dei vasi sanguigni.

Quanto ai caratteri delle cellule basofile osservate dirò subito in breve, che essi non corrispondono a quelli che Marschalkò (26) assegnò alle plasmacellule tipiche; essi invece coincidono in tutto a quelli descritti da Hodara (18) nei grandi leucociti mononucleati degli organi ematopoietici normali dell'uomo, e che egli chiamò *pseudoplasmacellule*.

Ciò che subito colpisce osservando a forte ingrandimento è la straordinaria varietà di forma e di grandezza dei nuclei di questi elementi. Nella milza, ove questi mononucleati basofili si riscontrano in grandi masse, ed è facile quindi far confronti tra elemento ed elemento, è più agevole rilevare le differenze. Da nuclei piccoli quasi quanto quelli dei linfociti si va a nuclei grossi il doppio, il triplo ed anche più. Le forme più grandi sono le più comuni: questo fatto costituisce già un carattere differenziale abbastanza importante di fronte alle plasmacellule, il cui nucleo è sempre di grandezza notevolmente minore. Si confronti a questo proposito gli elementi della fig. 24, che rappresentano le plasmacellule nella coccidiosi epatica del coniglio coi grandi elementi mononucleati della fig. 3 riscontrati nella milza in una di queste esperienze.

La membrana nucleare, abbastanza spessa, assume configurazioni svariatissime; le forme rotondeggianti e regolari rappresentano una minoranza, sovrabbondano invece le forme poligonali o del tutto irregolari, di un polimorfismo così ricco, che si sottrae ad ogni descrizione.

In questi elementi per lo più i granuli di cromatina nucleare sono assai più scarsi che nelle plasmacellule tipiche normali. Mentre in queste si hanno da 5 ad 8 grossi granuli di cromatina distribuiti regolarmente alla periferia del nucleo ed attaccati ad una sottile membrana nucleare, nei mononucleati invece si ha qualche grosso granulo generalmente situato verso il centro ed un certo numero di granuli più piccoli disseminati irregolarmente, specie verso la periferia del nucleo. È notevole il fatto che col metodo di Pappenheim-Unna tanto questi granuli quanto la membrana nucleare si tingono in un bleu violaceo anzichè in verde.

Con questa stessa colorazione facilmente si mette in rilievo un altro particolare morfologico importante per la diagnosi differenziale, la presenza cioè nella maggior parte degli elementi di più nucleoli colorati in rosso brillante dalla pironina ed irregolarmente distribuiti. Per lo più se ne notano due o tre, di rado quattro. A forte ingrandimento e con viva illuminazione si vede che spesso a questi nucleoli aderiscono zolle di cromatina colorate in bleu-

violaceo come la restante cromatina nucleare circondandoli talvolta in modo completo. La presenza di più nucleoli nei grandi leucociti mononucleati fu notata anche da Pappenheim (32) e da Ferrata (10), ma sinora non fu mai riscontrata nelle plasmacellule. Vi sono anzi alcuni autori (Hoffmann (19) ed altri) i quali pensano che nelle plasmacellule manchi un vero nucleolo. Quest'affermazione cade dinanzi all'osservazione col metodo di Pappenheim-Unna: le plasmacellule possiedono un solo nucleolo, che soltanto eccezionalmente non è visibile.

L'intensità di colorazione del nucleo dei grandi leucociti mononucleati basofili non è sempre identica: vi sono nuclei più scuri (in generale i più piccoli) ed altri più chiari. Questi ultimi presentano spesso un reticolo a larghe maglie di esili filamenti pallidamente colorati.

La posizione del nucleo nel corpo cellulare non è costante: il nucleo può essere eccentrico, sino ad occupare addirittura un polo della cellula, o del tutto centrale, come si osserva specialmente negli elementi a nucleo grande chiaro circondato per lo più da scarso protoplasma.

Per ciò che riguarda la struttura e la colorabilità del protoplasma questi elementi non presentano note differenziali. Il protoplasma ha una struttura alveolare ed è fortemente basofilo. La colorazione di solito è più intensa verso la periferia della cellula. Spesso intorno al nucleo si osserva un alone chiaro (fig. 3). In alcuni elementi il protoplasma presenta dei vacuoli assolutamente chiari, corrispondenti forse a gocciole di grasso disciolte dai reagenti.

I grandi leucociti mononucleati basofili qui descritti si presentano in generale nella milza (fig. 3) alquanto più grossi che nel sangue circolante (fig. 1) e possono persino raggiungere un volume doppio o triplo.

Nella milza essi alle volte formano dei grossi manicotti intorno ai piccoli rami vasali (fig. 9), oppure si trovano tutt'attorno ai follicoli malpighiani (fig. 2), o sparsi qua e là nella polpa. Il loro numero è straordinario nella milza dei conigli trattati con iniezioni ripetute di tubercolina, ove si osservano anche numerose figure cariocinetiche. Durante la cariocinesi il protoplasma conserva sempre una forte basofilia. Non mi è mai riuscito di riscontrare in questi elementi figure di divisione diretta, nè cellule polinucleate, come avviene spesso per le plasmacellule.

Molto istruttivi per ciò che riguarda l'origine di questi elementi sono i preparati, nei quali si vede la vena splenica in sezione longitudinale nel suo tragitto nel parenchima della milza in immediata vicinanza dell'ilo. La fig. 5 rappresenta appunto il contenuto della vena splenica di un coniglio trattato per venti giorni con iniezioni di tubercolina. Tra i corpuscoli rossi ed i leucociti a nucleo polimorfo si vede un numero straordinariamente grande di grandi e piccoli linfociti e di grandi leucociti mononucleati. Di questi se ne vedono alcuni con protoplasma debolmente tinto in rosa dalla pironina, altri con una tinta alquanto più marcata; ve ne sono anche di quelli, che hanno la periferia del protoplasma fortemente colorata in rosso, e finalmente si riscontrano elementi, in cui la basofilia si estende a tutto o quasi tutto il protoplasma. Tra

questi ultimi quindi ed i primi v'è una serie di gradazioni di tinte dal rosa pallido al rosso intenso. Questo diverso grado di affinità per i colori basici non è però accompagnato da nessun cambiamento dei caratteri morfologici. Noi riscontriamo tutte le note caratteristiche descritte più sopra tanto negli elementi a protoplasma intensamente basofilo, quanto in quelli a protoplasma debolmente colorato: verosimilmente si tratta quindi della stessa specie di elementi, cioè di grandi leucociti mononucleati, i quali, a somiglianza di quanto succede in altre sorta di cellule, in certe condizioni assumono un'affinità più o meno spiccata per i colori basici.

Queste mie osservazioni non si conciliano con le conclusioni di Marschalkò (26). Come giustamente rileva Hodara (18), Marschalkò trascurò in quel suo primo lavoro il fatto, che i grandi leucociti mononucleati possono in certe condizioni presentare la basofilia del protoplasma, come le plasmacellule. E se Cerletti (6) parla di produzione di plasmacellule nelle sue esperienze, ciò è dovuto evidentemente al fatto, che egli si è basato sopratutto sulla reazione tintoriale del protoplasma, che, come abbiamo già visto e come vedremo meglio in seguito, non è un criterio sufficiente per l'identificazione delle plasmacellule. Le mie osservazioni s'accordano invece pienamente coi risultati delle interessanti ricerche di Foà (12) intorno all'azione dei sieri citotossici sugli organi ematopoietici. Nelle sue varie esperienze Foà ha potuto osservare come l'eccitamento alla produzione dei mononucleati basofili, oltrechè per l'azione dei sieri leucotossici e splenotossici, non manca mai nelle iniezioni di siero di sangue eterogeneo. In questi casi le cellule mononucleate « non solo si moltiplicano per cariocinesi, ma si presentano con protoplasma molto abbondante assai intensamente basofilo ed emettono gemme o frammenti di sostanza protoplasmatica, quasi ciò fosse dovuto ad uno stimolo nutritivo, ad un eccesso di formazione ».

Encefaliti sperimentali. — Per provocare queste encefaliti adoperai la tubercolina, la tossina difterica, la tossina tetanica, il formolo, l'ammoniaca, inoculandone due o tre goccie nel parenchima cerebrale di cani per mezzo di una siringa di Pravatz dopo aver praticato nel cranio un foro sufficiente al passaggio dell'ago. In alcuni conigli innestai nel cervello con un ago i bacilli tubercolari di una cultura pura in agar glicerinato.

Esperienze colla tubercolina. — I cani iniettati con tubercolina di Koch (Merck) furono sacrificati dopo 6, 12, 18, 24 ore, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 20, 25, 65 giorni. Questa serie di esperienze — come naturalmente tutte le altre — non dà certamente passo a passo tutto lo svolgersi del processo infiammatorio. Vi sono in ogni esperienza elementi individuali, come il peso degli animali, la loro età, le variazioni inevitabili nella quantità di sostanza iniettata e nella sua diffusione nel tessuto nervoso, la partecipazione maggiore o minore della pia madre, ecc., elementi tutti, che inducono variazioni nella intensità del processo. Ma in complesso, dall'insieme delle esperienze è possibile farsi un concetto dello svolgimento della encefalite e della parte che

gli elementi cellulari, che qui sopratutto ci interessano, prendono in questo processo. Esporrò quindi i risultati ottenuti senza riportare i minuti particolari analitici dei singoli reperti.

La tubercolina determina nel punto d'iniezione un focolaio emorragico più o meno esteso a seconda della quantità iniettata. Se l'iniezione è caduta vicino alla pia, piccole emorragie si riscontrano anche in quest'organo. Le prime ore dopo l'iniezione sono caratterizzate dalla comparsa di un gran numero di leucociti a nucleo polimorfo nell'interno dei vasi sanguigni limitrofi al focolaio emorragico e nelle loro guaine linfatiche, come anche nel tratto della pia più vicino alla sede dell'iniezione. Questi leucociti subito dopo emigrano invadendo il tessuto nervoso circostante e lo stesso focolaio emorragico. Tale comparsa di leucociti è assolutamente indipendente da processi settici: è semplicemente determinata dall'azione chemiotattica della tubercolina.

Colla colorazione di Pappenheim-Unna si può osservare un diverso comportamento del protoplasma di questi leucociti rispetto alla pironina. L'infiltrazione perivasale in immediata vicinanza del punto d'iniezione è costituita semplicemente da leucociti a nucleo polimorfo il cui protoplasma rimane incoloro. Anche il lume dei vasi si vede ripieno di questi elementi. Però, allontanandosi dal focolaio emorragico prodotto dalla tubercolina, l'aspetto dell'infiltrazione cambia. Noi abbiamo qui in prevalenza o esclusivamente dei leucociti a nucleo polimorfo con un protoplasma chiaramente visibile, granuloso e tinto in rosa dalla pironina.

Nei tratti della pia distanti dalla sede dell'iniezione si possono osservare in scarso numero leucociti a nucleo polimorfo; elementi a piccolo nucleo più o meno ricco in cromatina con un orlo sottile di protoplasma colorato in rosa, che rassomigliano ai linfociti del sangue; infine in numero alquanto maggiore dei suddetti elementi altri elementi cellulari o rotondeggiati a margine netto e ben visibile o a contorni irregolari e indistinti, con nucleo di varia forma e grandezza, chiaro, povero di cromatina, e con protoplasma piuttosto abbondante, indistintamente granuloso e colorato in rosa. Quest'ultimi elementi hanno tutto l'aspetto dei leucociti grandi mononucleati del sangue, e se ne trovano anche nell'interno dei vasi. Qua e là isolatamente, sia nello spessore della pia intorno ai vasi, sia nel lume di questi, si vede qualcuno di questi elementi con un protoplasma fortemente tinto in rosso dalla pironina.

Tutto ciò si ha nelle prime 6-12 ore, ma in seguito l'aspetto cambia. All'afflusso delle prime ore succede una notevole diminuzione dell'emigrazione dei leucociti a nucleo polimorfo, tanto che in capo alle 24 ore non se ne vedono che pochi nell'interno del lume dei vasi. Questi leucociti emigrati cadono più o meno presto in preda a processi regressivi e nell'ulteriore sviluppo del processo flogistico gradatamente scompaiono. Dopo un giorno l'infiltrazione perivasale si vede, specialmente nei vasi che non sono in immediata vicinanza dell'iniezione, costituita in prevalenza o quasi esclusivamente da quegli elementi mononucleati simili ai grandi mononucleati del sangue, che abbiamo descritti nella pia. Ma quello che è più importante, e che riguarda

direttamente le nostre ricerche, è la presenza tra queste cellule leucocitoidi di quegli speciali elementi mononucleati a protoplasma intensamente basofilo, di cui qualche raro esemplare abbiamo osservato nella pia in uno stadio più precoce. Essi cominciano a comparire intorno ai vasi della sostanza cerebrale e qualcuno se ne vede anche isolatamente nell'interno dei vasi, più facilmente in quelli tagliati longitudinalmente, tra i corpuscoli del sangue circolante.

Verso quest'epoca sono diventati anche più numerosi nella pia, ove precocemente molti di essi vanno incontro a processi di regressione, per cui si mostrano con una metà del protoplasma intensamente colorato, mentre l'altra metà resta pallida, indistinta, oppure presenta dei vacuoli (fig. 11).

Nei giorni successivi, e specialmente verso il 4°-6° giorno, questi elementi aumentano in modo considerevole nel tessuto di granulazione. Sono specialmente numerosi intorno ai vasi (fig. 12). Molti se ne vedono tra i fibroblasti di recente formati ed anche qua e là isolatamente dentro il lume dei vasi sanguigni. Se ne riscontrano pure tra le emazie dello stravaso sanguigno, ove mancano affatto nei primi giorni, e non è molto infrequente il caso di osservarli nel tessuto nervoso circostante tra le cellule di nevroglia in proliferazione. Questi ultimi due fatti starebbero in favore della loro capacità migratoria.

Queste cellule basofile, che fanno così precoce comparsa nel tessuto di granulazione infiammatorio, sono state da varî autori interpretate come plasmacellule. Come vedremo, questa interpretazione per varie ragioni non è giustificata, ed io preferisco sin da ora adottare per esse la denominazione di pseudoplasmacellule, come è stato fatto da qualche autore.

Nei preparati di 18-24 ore le pseudoplasmacellule sono piccole ed hanno tutti i caratteri dei grandi leucociti mononucleati del sangue. In stadî ulteriori esse acquistano proporzioni due o tre volte maggiori; ingrandisce il nucleo e si sviluppa specialmente il protoplasma. Il corpo cellulare assume diversissime forme, può emettere delle escrescenze protoplasmatiche, che verosimilmente sono da considerarsi come espressione di una attività ameboide. Se sono raggruppate strettamente, assumono per la compressione reciproca le più svariate forme poligonali. Qualche volta sono allungate, altre volte infine rotondeggianti, a contorno regolare.

Il loro nucleo è per lo più eccentrico, di varia grandezza e di varia forma. Le forme più irregolari si hanno specialmente nei primi giorni. Verso il 6°-8° giorno i nuclei diventano in generale più rotondeggianti. Coi diversi metodi di colorazione impiegati, alcuni nuclei, specialmente i più piccoli, si presentano oscuri; i grandi in generale si presentano più chiari con un fine reticolo a larghissime maglie e con scarsi granuli di cromatina di varia grandezza ed irregolarmente distribuiti.

Tra questi granuli se ne possono contare in generale 2-3 molto grossi; più numerosi sono invece i piccoli. Raramente succede che questi ultimi si distribuiscano regolarmente alla periferia del nucleo, addossati alla membrana nucleare, in modo da simulare un nucleo di plasmacellula. Qualche esemplare

isolato se ne riscontra nel tessuto di granulazione verso il sesto giorno dalla iniezione di tubercolina. Tuttavia anche in questi casi eccezionali la diagnosi istologica può essere fatta in base alla maggiore grandezza del nucleo ed alla estrema piccolezza di questi granuli rispetto a quelli molto grossi delle vere plasmacellule.

Come nelle leucocitosi artificiali, anche nel tessuto di granulazione infiammatorio provocato colla tubercolina i nuclei delle pseudoplasmacellule frequentemente mostrano da uno a tre nucleoli colorati in rosso vivo dalla pironina, i quali spesso presentano sul loro margine delle zolle di cromatina in forma di granuli o in forma d'anello o di semiluna.

Il protoplasma delle pseudoplasmacellule presenta una struttura finemente e regolármente alveolare, che ha una forte elettività per le sostanze coloranti basiche e per la pironina. La sua intensa colorazione non è data però dal contenuto degli alveoli, che, come si può facilmente constatare a fortissimo ingrandimento, è del tutto incolore, ma da una sostanza che è intimamente legata all'impalcatura alveolare. La colorazione, specialmente negli elementi più giovani, è diffusa a tutto il protoplasma con maggiore intensità verso la periferia e minore invece intorno al nucleo. In molti elementi si scorge intorno al nucleo un alone o completamente chiaro o molto pallidamente colorato. Ad un forte ingrandimento in quest'alone si scorge benissimo la struttura alveolare del protoplasma colorata debolmente.

In conclusione, nel tessuto di granulazione sperimentalmente prodotto dalla tubercolina noi riscontriamo elementi che presentano i medesimi caratteri morfologici e tintoriali dei grandi leucociti mononucleati basofili, che nelle leucocitosi artificiali abbiamo potuto riscontrare sia nella milza sia nel sangue circolante.

Sin dai primi giorni della loro comparsa le pseudoplasmacellule vanno incontro a processi regressivi. Alcune presentano nel protoplasma dei grossi vacuoli, la cui posizione si può dire quasi caratteristica. Essi sono situati ad un lato del corpo cellulare, mentre all'altro lato insieme ad una zona di protoplasma fortemente basofilo vi è il nucleo anch'esso intensamente colorato, tanto che il più delle volte è difficile distinguere la sua intima struttura (fig. 11). Questi vacuoli, che possono trovarsi in numero vario nelle singole cellule, non si colorano affatto nelle sezioni dei pezzi fissati in alcool assoluto e trattati collo xilolo per l'inclusione in paraffina. Tutto fa credere che essi rappresentino degli spazi vuoti da gocciole di grasso disciolto. Quando questi vacuoli si trovano situati proprio alla periferia delle cellule il più delle volte si rompono lasciando il margine protoplasmatico corrispondente arcuato (fig. 11). Elementi così alterati ho potuto osservare nella pia sin dal primo giorno del processo flogistico (fig. 15); in seguito se ne possono riscontrare anche nel focolaio infiammatorio sparsi qua e là intorno ai vasi.

In altre pseudoplasmacellule è frequente invece la presenza di uno o due grandi vacuoli proprio in immediata vicinanza del nucleo. In questi casi il nucleo è spinto completamente ad un polo della cellula. Nel centro della

cellula si vede uno spazio chiaro, però non a limiti netti, come quelli dei vacuoli più sopra descritti; i margini sfumati in rosa si perdono gradatamente nella colorazione rossa del protoplasma (fig. 13). Questo spazio chiaro non è da confondere con l'alone chiaro perinucleare che si osserva in molte di queste cellule basofile. La differenza consiste in questo, che nell'alone chiaro perinucleare abbiamo, come s'è visto, semplicemente una deficienza di sostanza basofila, ma la struttura alveolare del protoplasma resta intatta e si vede pallidamente colorata in rosa dalla pironina. Il vacuolo paranucleare si presenta invece come una massa del tutto omogenea. In certe cellule esso si estende a gran parte del protoplasma.

Di interessante nel quarto giorno v'è la comparsa di altri elementi di trasformazione o meglio di degenerazione delle pseudoplasmacellule. Essi si trovano intorno alle pareti vasali, tra le emazie dello stravaso sanguigno, oppure, sebbene molto raramente, nello spessore del tessuto nervoso in immediata vicinanza dei vasi. In questi elementi avviene una specie di ingrossamento degli alveoli componenti il protoplasma, tanto che questo sembra costituito da numerose palle insieme agglomerate. La grandezza del corpo cellulare varia a seconda dell'ingrossamento che hanno subito i singoli alveoli. I più piccoli di questi elementi alterati si trovano intorno alle pareti vasali. È da notare che la grandezza dei diversi alveoli nella stessa cellula, specialmente nei primi stadî della degenerazione, è quasi sempre uguale per tutti. Siffatti elementi presentano inoltre il nucleo spostato interamente ad un polo della cellula. Nei primi gradi della trasformazione la basofilia del protoplasma si attenua a poco a poco e nello stesso tempo la colorazione colla pironina si va insensibilmente cambiando in rosa. Nelle fasi più avanzate della trasformazione il protoplasma assume una colorazione rosa-lilla perfettamente simile a quella delle zolle ialine delle plasmacellule in degenerazione (fig. 8). Sicchè a prima vista l'aspetto cromatico che questi elementi presentano colla colorazione di Pappenheim-Unna nelle fasi avanzate della loro trasformazione, indurrebbe a confonderli facilmente colle plasmacellule in degenerazione ialina. La diagnosi differenziale però riesce facile quando si considera l'aspetto morfologico e sopratutto quando si tiene conto delle differenze di reazione con altre sostanze coloranti.

In quanto al criterio morfologico c'è da notare che le masse ialine il più delle volte sono disuguali tra di loro; che certe volte per la compressione, che si esercitano vicendevolmente nello stretto spazio della cellula, assumono un aspetto poligonale; che se in certe cellule occupano tutto il protoplasma, in altre invece ne occupano soltanto una parte, e il rimanente conserva i caratteri tintoriali proprî; che cominciano come granuli i quali ingrandiscono da sè e fors'anche per la confluenza con granuli vicini e che possono raggiungere proporzioni, che non si hanno nelle cellule di cui parlo; e finalmente esse possono diventar libere nel tessuto. In quest'altre cellule sembra invece che si tratti di una degenerazione idropica, per cui la sostanza contenuta negli alveoli del protoplasma, probabilmente sotto l'influsso di un edema, aumenta considerevolmente dilatandoli, mentre la sostanza basofila viene alla sua

volta a perdere la sua reazione caratteristica. Per ciò che riguarda le reazioni tintoriali dirò che nè il metodo di Russel per la degenerazione ialina, nè il metodo tricromico di Cajal colla fissazione in alcool dànno la colorazione rossa caratteristica della sostanza ialina, anzi quest'ultimo metodo viene a colorare il protoplasma di queste cellule in verde azzurrognolo coll'indaco-carminio. L'elettività quindi per la fucsina basica, come si ha nei corpi ialini, qui manca totalmente. Di più l'ematossilina ferrica di Heidenhain non tinge affatto questi alveoli in nero, come le zolle ialine delle plasmacellule, ma semplicemente dà una tinta grigiastra all'impalcatura alveolare (fig. 6). La miscela di van Gieson e la doppia colorazione coll'ematossilina ed eosina non dànno una speciale reazione. Il bleu di metilene di Löffler tinge in celeste il protoplasma (fig. 7) e cosi pure la tionina. Coll'ematossilina fosfomolibdica di Mallory questi elementi vengono colorati in bleu-grigiastro. Una colorazione pressochè identica dà il metodo di Unna col bleu policromo e ferrocianuro di potassio. Avendo applicato i metodi per la ricerca della mucina, quali le colorazioni con mucicarminio, tionina, triacida di Ehrlich, non ho ottenuto risultati positivi.

Dalle comuni cellule granulo-adipose questi elementi si distinguono benissimo applicando alle sezioni dei pezzi fissati in alcool le colorazioni sopra indicate e specialmente l'ematossilina fosfomolibdica di Mallory.

Sull'ulteriore destino di questi elementi posso solamente dire, che essi s'incontrano anche nella sesta giornata, in tempo più avanzato scompaiono completamente. Debbo pure aggiungere che li ho riscontrati solamente in queste esperienze colla tubercolina. Per quanto riguarda il loro significato, forse essi sono da ascriversi alla grande classe delle cosidette *Schaumzellen*. La descrizione fatta rappresenterebbe le prime fasi della trasformazione.

Le pseudoplasmacellule nel tessuto di granulazione raggiungono il loro massimo numero nella sesta giornata; poi diminuiscono rapidamente, probabilmente per i processi degenerativi descritti. Nell'ottava giornata se ne trova ancora qualcuna nel lume dei grossi vasi (fig. 16) e qua e là nel tessuto di granulazione. Le forme degenerative sono in maggioranza. Se ne vedono molte, che presentano un protoplasma con numerosi vacuoli, a margini sfrangiati e spezzettati che ha perduto gran parte della sua basofilia, e con un nucleo rigonfio, vescicoloso, chiaro. In decima giornata si son fatte estremamente rare.

È notevole il fatto che più tardi, in 12ª-14ª giornata, compaiono nel tessuto di granulazione numerose plasmacellule. Se ne vedono intorno ai vasi, ma in maggior numero tra i fibroblasti e le cellule granulo-adipose (fig. 18). In certi punti si possono osservare anche tra le cellule nervose e le cellule di nevroglia (fig. 19). Si distinguono dalle pseudoplasmacellule, che in questo periodo di tempo sono diventate scarsissime, per il loro nucleo piccolo, regolare, rotondo od ovale, di fronte al quale il protoplasma è molto abbondante (fig. 25). In molte di esse i granuli cromatinici sono distribuiti piuttosto irregolarmente.

Nei giorni successivi anche le plasmacellule vengono a scomparire: al 20° ed al 25° giorno sono notevolmente diminuite di numero e le poche, che si osservano, sono alterate: non ne ho più riscontrate nella 65ª giornata.

Questa comparsa delle plasmacellule in una fase avanzata del processo potrebbe far pensare ad una trasformazione in plasmacellule degli elementi mononucleati basofili, che caratterizzano l'inizio del processo infiammatorio. Io credo peraltro che questa ipotesi si debba del tutto respingere: la comparsa delle plasmacellule è preceduta da una fase del processo infiammatorio in cui le pseudoplasmacellule sono estremamente ridotte di numero ed in massima parte cadute in preda a processi di dissoluzione.

Esperienze colla tossina difterica. — La durata delle esperienze fu di 24, 32, 41 ore, 2, 3, 7 giorni. I cani della 2ª e 3ª esperienza morirono, gli altri furono uccisi.

I risultati di queste esperienze sono fondamentalmente identici a quelli ottenuti colla tubercolina. Le pseudoplasmacellule sono scarsissime nel primo giorno; in seguito diventano più numerose e se ne vedono intorno ai vasi, come pure nel loro interno, tra i corpuscoli rossi e bianchi del sangue circolante. La fig. 10 rappresenta appunto un vaso del tessuto nervoso, che circonda il focolaio emorragico, dopo due giorni dall'inoculazione: le pseudoplasmacellule si vedono sia nell'interno del lume come pure nella guaina perivasale. Esse presentano i caratteri che abbiamo più sopra descritto. Nella fig. 23 è rappresentato un tratto del tessuto di granulazione dopo sette giorni dall'inoculazione. In questo caso la lesione era caduta proprio nella corteccia cerebrale ed interessava direttamente la pia. Il campo emorragico è attraversato da un numero straordinario di fibroblasti, di cellule granulo-adipose e di piccoli vasi neoformati; di più v'è un gran numero di pseudoplasmacellule con protoplasma abbondante, la maggior parte delle quali si presentano alterate. Il protoplasma di molti di questi elementi ha il contorno molto irregolare, sfrangiato, a lembi, come spezzettato, e racchiude vacuoli di varia grandezza. Lo spazio chiaro paranucleare, che si vede in molti di questi elementi non rappresenta altro che un grosso vacuolo. Le vere e tipiche plasmacellule mancano affatto: nella esperienza di sette giorni si osservano soltanto intorno ai vasi e tra i fibroblasti del tessuto di granulazione alcuni elementi, la struttura nucleare dei quali s'avvicina sia per la grandezza, sia per la regolarità della forma, a quella delle plasmacellule. Se ne discosta però per il fatto che i granuli cromatinici non presentano la posizione periferica caratteristica del nucleo a ruota delle tipiche plasmacellule. Questi elementi forse sono da considerarsi come plasmacellule in via di formazione.

Di recente, nell'encefalite sperimentale da tossina difterica, Righetti (36) ha descritto la comparsa precoce di plasmacellule. « Fin dalle prime 22 ore — egli dice — abbiamo infatti constatato la comparsa di plasmacellule tipiche, sebbene scarse, associate a linfociti e ad elementi linfocitoidi tanto nello spessore dell'avventizia quanto nelle guaine avventiziali dei vasi piali e del parenchima, nonchè allo stato libero nello spazio aracnoidale ed infiltrate nel paren-

chima. Come pure abbiamo notato nel medesimo periodo delle plasmacellule tipiche entro i vasi ».

Questa diagnosi citologica di Righetti dipende da ciò, che egli si è attenuto strettamente ai criteri morfologici indicati da Nissl, i quali, come vedremo, non possono considerarsi come sufficienti per una giusta identificazione delle plasmacellule. Di più i metodi adoperati (bleu di toluidina, bleu di metilene saponato di Nissl, bleu policromo di Unna) non bastano a mettere in evidenza alcuni dei caratteri differenziali. Peraltro gli elementi, di cui Righetti dà la figura, possono benissimo essere interpretati come pseudoplasmacellule.

Esperienze colla tossina tetanica. — Gli animali iniettati con tossina tetanica rimasero in vita per 1, 3, 5 giorni. Il reperto microscopico corrisponde, per ciò che riguarda gli elementi cellulari d'infiltrazione, alle prime fasi dei processi più sopra descritti: non si riscontrano che pseudoplasmacellule coi loro tipici caratteri.

Esperienze col formolo. — Gli animali, a cui fu iniettato il formolo puro, furono uccisi dopo 1, 2, 4, 7 giorni. Il formolo produce nel cervello un focolaio necrotico-emorragico piuttosto esteso. Nei vasi circostanti si ha nei primi giorni un afflusso di leucociti a nucleo polimorfo, ma mancano affatto le pseudoplasmacellule. Queste compaiono al quarto giorno, ma in scarso numero. Sono anche scarse al settimo. Non si osservano plasmacellule.

Voglio qui richiamare l'attenzione sulla basofilia, che le cellule endoteliali dei vasi possono assumere sotto l'azione di uno stimolo infiammatorio, e che per tale carattere potrebbero alle volte simulare delle plasmacellule, se non si tenesse conto delle proprietà del nucleo. Non intendo parlare delle cellule endoteliali allungate o di molto sviluppate, che presentano sì evidenti caratteri proprî da non poter essere confuse colle plasmacellule o con altre cellule a protoplasma basofilo, ma particolarmente di quelle forme piccole, poligonali o un po' allungate, alle volte anche irregolarmente rotonde, spesso col nucleo in posizione eccentrica, le quali si presentano con un protoplasma alveolare e fortemente basofilo. La fig. 20 rappresenta un vaso cerebrale di cane al quarto giorno dall'inoculazione di formolo, le cui cellule endoteliali sono fortemente basofile ed ipertrofiche. Di tali elementi sono rappresentati alcuni a forte ingrandimento nella fig. 21. Il carattere differenziale principale di questi elementi facilmente rilevabile è che essi presentano un grande nucleo a contorni più o meno irregolari, in cui si vede un grossissimo nucleolo, alle volte anche più d'uno. Col metodo di Pappenheim-Unna non si scorge altra cromatina nucleare in forma di granuli. La diagnosi differenziale di questi elementi, sopratutto quando ci sfugge il criterio della posizione, può essere fatta basandoci su questi caratteri morfologici.

Esperienze coll'ammoniaca. — L'iniezione d'ammoniaca fu fatta in tre cani, che morirono rispettivamente dopo 18 ore, 3, 8 giorni. Anche l'ammoniaca determina estesi focolai necrotico-emorragici. Nella zona d'infiltrazione, che li circonda, sono scarse le pseudoplasmacellule e mancano affatto le plasmacellule.

Tubercolosi sperimentale. — Allo scopo di risolvere la questione della origine delle plasmacellule, Nissl (29) ha provocato sperimentalmente lesioni di diversa specie nella corteccia cerebrale di conigli, e tra l'altre una encefalite tubercolare. Dopo due giorni dall' innesto dei bacilli tubercolari, egli osservò « nel sangue circolante dei vasi della pia e della corteccia molti elementi bianchi del sangue, che non potè identificare nè come linfociti, nè come grandi leucociti mononucleati non granulosi ». Dopo tre giorni molti vasi lontani dal punto d'innesto mostravano già un rivestimento di plasmacellule; « ma ciò che è molto più importante è il fatto, che nel sangue circolante tra le emazie erano considerevolmente aumentate quelle speciali cellule » riscontrate al secondo giorno e che « tra di esse si trovavano anche alcune evidenti plasmacellule ». Quegli speciali elementi costituiscono per Nissl tutte le forme di passaggio dai grandi e piccoli linfociti alle plasmacellule tipiche e si riscontrano nella tubercolosi cerebrale sperimentale non solo nel sangue circolante, ma anche negli infiltrati perivasali fin dai primi giorni dell'esperimento.

Con ciò risulterebbe confermata l'ipotesi della origine ematogena delle plasmacellule. Ma, come vedremo più innanzi, Nissl dà delle plasmacellule una descrizione particolare, la quale mostra come egli abbia accomunato in una stessa categoria i grandi leucociti mononucleati basofili non granulosi e le plasmacellule tipiche.

Le mie ricerche riguardano sopratutto il 1°, 2°, 3°, e 4° giorno d'esperimento.

Dopo 24 ore il fatto più saliente è un'attiva emigrazione di leucociti a nucleo polimorfo dai vasi sanguigni verso il punto d'innesto dei bacilli tubercolari; qua e là in seno al tessuto nervoso v'è qualche emorragia puntiforme.

L'infiltrazione perivasale, che al primo giorno è quasi esclusivamente costituíta da questi leucociti, va in seguito cambiando d'aspetto: i leucociti a nucleo polimorfo vengono — più presto nella pia e nei vasi lontani dal punto d'innesto — a poco a poco sostituiti da elementi simili ai linfociti ed ai grandi mononucleati del sangue. Ora sono precisamente questi ultimi elementi che, analogamente a quanto avviene negli altri processi encefalitici descritti, possono presentare una basofilia del protoplasma più o meno intensa. Specialmente al terzo ed al quarto giorno d'esperimento si vedono, sebbene in scarsa quantità, delle pseudoplasmacellule, e qualcuna se ne osserva nel lume dei vasi tra le emazie. Non ne ho mai riscontrate in così forte numero da costituire da sole dei veri rivestimenti perivasali, come nelle esperienze di Nissl; ma ciò evidentemente può dipendere dalla quantità o dalla virulenza dei germi innestati.

In tutti questi preparati sono completamente assenti le plasmacellule tipiche. Questo fatto è conforme alle osservazioni di Vanzetti e Parodi (44). Anche questi autori nelle prime fasi della encefalite tubercolare sperimentale non riuscirono a constatare delle plasmacellule.

In conclusione queste mie osservazioni sui primissimi stadî della encefalite tubercolare sperimentale, se da una parte confermano la precoce com-

parsa di elementi cellulari a protoplasma basofilo sia nel sangue dei vasi, sia negli infiltrati perivasali, d'altra parte inducono a ritenere che questi elementi non sono plasmacellule tipiche nel senso di Marschalkò, ma pseudoplasmacellule identiche a quelle riscontrate negli altri processi di encefalite sperimentale.

Verosimilmente gli elementi che Nissl non credette di identificare nè come linfociti, nè come grandi leucociti mononucleati non granulosi e che ritenne come forme di passaggio tra questi elementi e le plasmacellule tipiche, altro non sono che grandi leucociti mononucleati con leggera basofilia, e gli elementi considerati come plasmacellule non sono invece che dei mononucleati basofili o pseudoplasmacellule.

Come Marschalkò a proposito della leucocitosi sperimentale per tubercolina, così Nissl nella encefalite tubercolare non ha tenuto presenti i grandi leucociti mononucleati basofili, che pure sono ormai ammessi da tutti gli ematologi e che presentano sicure differenze morfologiche di fronte alle plasmacellule tipiche.

A chiarimento di questi miei risultati io ho voluto anche vedere, se la neoformazione tubercolare in altri organi è anche preceduta ed accompagnata, come nel cervello, dalla presenza di pseudoplasmacellule negli infiltrati perivasali. Ho perciò esaminato col metodo di Pappenheim-Unna pezzi di milza, di fegato, di polmone e di ghiandole linfatiche di cavia infetta sperimentalmente da tubercolosi, pezzi nei quali macroscopicamente si vedevano piccoli tubercoli.

Nel polmone di cavia esaminato la neoformazione tubercolare si trova all'inizio: si hanno ricche infiltrazioni perivasali di elementi linfocitoidi e leucocitoidi, tra i quali si vedono numerose pseudoplasmacellule. Alle volte una parte dell'infiltrato è composta semplicemente da esse (fig. 22). Queste infiltrazioni per lo più si presentano a grossi focolai e sopratutto all'inizio del processo non circondano mai tutto il vaso, specialmente se questo è di grosso calibro. Da questi infiltrati pare che s'inizi la neoformazione tubercolare, poichè io ho potuto osservare in tutti i preparati alla periferia dell'infiltrato molti vasi ed anche tra le cellule che lo compongono la presenza di non dubbie cellule epitelioidi in certi casi molto numerose ed accompagnate anche da qualche cellula gigante. Molte volte ho potuto riscontrare nell'interno dei vasi le pseudoplasmacellule proprio tra le emazie del sangue. Non raramente accade di riscontrarle anche negli stravasi sanguigni e tra gli elementi cellulari di cui è infiltrato il parenchima polmonare.

Nella milza si riscontrano numerosi e grossi focolai di cellule epitelioidi con qualche cellula gigante. La caseificazione delle neoformazioni tubercolari non è ancora avvenuta. Dappertutto nella polpa splenica o isolate o aggruppate si osservano numerosissime pseudoplasmacellule.

Nelle ghiandole linfatiche ho riscontrato varî tubercoli estesamente caseificati. Anche qui si nota la presenza di numerose pseudoplasmacellule frammiste alle cellule epitelioidi o alle cellule normali del tessuto. La fig. 27 rap-

presenta appunto questi elementi in una ghiandola linfatica intorno a due vasi tra una ricca quantità di cellule epitelioidi. Nelle infiltrazioni perivasali del fegato ho riscontrato scarso numero di pseudoplasmacellule.

***

Considerando le cellule mononucleate basofile o pseudoplasmacellule riscontrate nel campo infiammatorio al di fuori dei vasi come provenienti in massima parte dai vasi, io ho ammesso implicitamente che questi elementi siano dotati di potere migratorio. Molti patologi infatti ammettono tale capacità migratoria degli elementi mononucleati del sangue; ma è peraltro anche vero che molti altri la negano. Io sono piuttosto propenso ad accettare la ipotesi positiva per le ragioni seguenti:

1) Elementi mononucleati con caratteri simili si riscontrano simultaneamente dentro e fuori dei vasi.

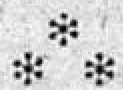
2) È poco verosimile che in breve tempo si possa avere per proliferazione di elementi fissi una produzione così abbondante di cellule d'infiltrazione.

3) Nei primi stadî del processo infiammatorio manca qualunque forma di divisione nucleare diretta o indiretta degli elementi connettivi perivascolari sia avventiziali, sia delle guaine linfatiche perivasali.

4) La dottrina di Ribbert, che fa provenire gli elementi dell'essudato infiammatorio da accumuli di linfociti preesistenti nei tessuti non è applicabile ai vasi cerebrali, intorno ai quali tali accumuli non sono stati sinora osservati.

5) Forse una piccola parte degli elementi mononucleati dell'essudato infiammatorio e quindi anche delle pseudoplasmacellule avrà origine dagli elementi linfocitoidi preesistenti nel connettivo perivasale [Foá (13), Porcile (35)], o dai clasmatociti [Maximow (28)] o dalle cellule avventiziali [Marchand (25)] dei vasi. In tutti i modi, se una tale trasformazione effettivamente avviene, essa non si può ottenere mai nei primi momenti, ma solo quando gli elementi fissi del connettivo entrano in istato di attività proliferativa.

6) Allo stato attuale delle nostre conoscenze, il principio di Ehrlich, per cui tra gli elementi bianchi del sangue solo i leucociti a nucleo polimorfo hanno la capacità di emigrare dai vasi, non si può più sostenere in modo assoluto. Se gli studî fatti non ci permettono ancora di affermare recisamente la dottrina opposta di Baumgarten dell'origine ematogena della cosidetta infiltrazione parvicellulare, soltanto perchè manca la conferma di una osservazione diretta dell'emigrazione da parte dei leucociti mononucleati del sangue (linfociti e mononucleati propriamente detti) attraverso le pareti vasali, pure le rirerche sperimentali di varî autori [Almkvist (2), Wolff (49) ed altri] ci offrono tali argomenti di probabilità in suo favore, da doverla accettare se non in blocco, almeno in parte. Lo stesso Pappenheim (33), strenuo sostenitore della dottrina di Ehrlich, in seguito ai lavori di Schridde, di Orth, di Maximow ha recentemente espresso una tale opinione.



Maximow (28) nel suo interessantissimo lavoro sulla neoformazione infiammatoria del tessuto connettivo ha richiamato l'attenzione su speciali elementi mononucleati a protoplasma basofilo, ai quali egli ha dato il nome di *poliblasti*. Egli ha potuto osservare la loro comparsa sin dai primi stadî del processo infiammatorio prodotto coll'introduzione di corpi estranei asettici nel connettivo lasso intermuscolare e sottocutaneo. I caratteri morfologici, che questi elementi presentano, sono tali da permettere una netta distinzione tra essi e le plasmacellule tipiche, che nel focolaio infiammatorio compaiono in stadî più avanzati e delle quali Maximow fa una classe a parte di poliblasti.

I caratteri morfologici e tintoriali degli elementi mononucleati basofili o pseudoplasmacellule da me riscontrati in queste ricerche corrispondono perfettamente alla descrizione che Maximow dà dei suoi poliblasti. Questi elementi sono pure simili a quelli che abbiamo descritti nella milza e nel sangue nelle leucocitosi artificiali. Essi per i loro caratteri si debbono identificare anche con le cellule descritte da Hodara (18) negli organi ematopoietici normali dell'uomo e con quelli riscontrati da Schottländer (40) e da Krompecker (24) in differenti processi infiammatorî e ritenuti come plasmacellule derivanti dai grandi leucociti mononucleati, da tenersi distinte però dalle plasmacellule tipiche per i loro differenti caratteri morfologici.

Da ciò e da quanto più sopra abbiamo esposto risulta dunque, che molti reperti di plasmacellule fatti in questi ultimi anni, e specialmente in ricerche sperimentali, sono da sottoporre ad una revisione critica dal punto di vista della diagnosi citologica, essendo evidente, che in molti casi non si tratta di vere e proprie plasmacellule, ma di pseudoplasmacellule. Percorrendo la letteratura sull'argomento si vede infatti, come dai primi lavori di Cajal (4) e di Unna (41) a quello recente di Nissl (29), se da una parte si è andata accumulando una ricca messe di osservazioni, di modo che nella gran maggioranza dei casi riesce facile orizzontarsi per una diagnosi sicura, da un'altra parte il fatto, che molti autori hanno esteso la denominazione di plasmacellule ad elementi di natura e di significato ben diverso, ha portato a confusioni e ad apprezzamenti del tutto personali. Occorre quindi approfondire lo studio morfologico di tutti questi elementi e cercar di fissare con nuove osservazioni e con la revisione critica della letteratura il concetto morfologico di plasmacellula.

Con questo intento io mi son messo ad esaminare un ricco materiale anatomo-patologico riferentesi a diversi processi morbosi, nei quali le plasmacellule fanno la loro comparsa e che qui enumero: sifilide del fegato, carcinoma del fegato, cirrosi epatica, tubercolosi polmonare (tre casi), condiloma piano, condiloma acuminato, cisticercosi cerebrale, tubercolo solitario del cervello (due casi), ascesso cerebrale, ascesso cerebellare, tubercolosi dell'occhio,

cancro della lingua, *lupus*, gomma del fegato, pachimeningite emorragica, meningite tubercolare (quattro casi), paralisi progressiva (sei casi), epitelioma della palpebra, coccidiosi epatica del coniglio.

Per la fissazione dei pezzi ho preferito l'alcool, essendo generalmente riconosciuto come il miglior liquido fissatore delle plasmacellule. Altre fissazioni, come quelle in soluzione di sublimato saturo, sublimato ed acido picrico, liquido di Zenker e di Müller, soluzione di formolo e miscela di Müller e formolo furono adoperate per qualche pezzo a scopo di prova. I risultati delle mie ricerche su tutti questi liquidi fissatori collimano perfettamente con quanto ne hanno scritto Unna (42) e Veratti (45) e che cioè gran parte di essi non permettono una bella e netta colorazione delle plasmacellule, anzi alcuni, come per es. le miscele con formolo, sono assolutamente inadatti allo scopo. In quanto all'alcool ho trovato che la fissazione in alcool assoluto è l'unica per avere la più brillante colorazione colla miscela di Pappenheim-Unna; però, come consigliano Fick (11) e Veratti (45), le sezioni dei pezzi inclusi in paraffina non debbono essere attaccate sui vetrini. Le sezioni attaccate sui vetrini e trattate nella stessa guisa si decolorano rapidamente nell'alcool differenziatore. Nelle mie ricerche ho anche potuto osservare che tale decolorazione delle sezioni attaccate sui vetrini è molto minore, se i pezzi sono fissati in alcool di gradazione inferiore. Ho ottenuto dei preparati di materiale fissato in alcool comune ed anche in alcool a 50°, a 70° ecc., che se non raggiungono la bellezza di quelli di materiale fissato in alcool assoluto, pure sono molto bene utilizzabili.

Per la colorazione delle sezioni adoperai la miscela di pironina e verde di metile secondo la formola di Pappenheim-Unna, il bleu di metilene policromo di Unna con successiva differenziazione nella miscela di glicerina ed etere, la tionina e il bleu di toluidina. Feci anche colorazioni colla semplice ematossilina e coll'ematossilina ferrica di Heidenhain. Tra tutte queste sostanze coloranti quella che mi ha dato migliori risultati è la miscela di Pappenheim-Unna. Lo studio morfologico, che qui riferisco, è fatto principalmente sui reperti ottenuti mediante questa colorazione.

Il corpo delle plasmacellule tipiche e normali si presenta nei diversi tessuti, che le contengono, sotto forme svariate. Predominano, è vero, le forme all'ingrosso sferiche ed ovoidali, ma si possono avere anche forme diversamente poliedriche ed anche forme allungate. Questa diversità di forma in generale dipende, come del resto è stato più volte osservato, dalla natura del tessuto in cui le plasmacellule si trovano e dalla fitta agglomerazione con cui si presentano in certi processi morbosi. Nei tessuti più o meno lassi questi elementi possono agevolmente espandersi e si presentano allora prevalentemente sotto le forme arrotondate sferiche ed ovoidali; nei tessuti invece in cui si hanno molte fibre collagene o dove esse sono numerose e stipate fittamente le une contro le altre, predominano le plasmacellule allungate e fusiformi coartate dalle fibrille connettivali o le forme triangolari, cubiche, poliedriche determinate dalla compressione che esse scambievolmente si esercitano.

Il corpo cellulare ha margini netti e ben delimitati, e non presenta frastagliature o dentellature, se non quando la cellula è vecchia ed alterata. Secondo Krompecher (24) si debbono considerare come patologiche le plasmacellule a protoplasma dilacerato. Nello stesso senso si esprime Maximow (28): « Quanto più vecchia diventa la cellula tanto più libera giace e tanto più varia diventa la sua forma esterna. Dapertutto alla periferia si vedono quindi originare corte propaggini, il più delle volte smussate, a forma di brandelli, molto raramente acute; il margine delle cellule appare spesso in realtà come sbrandellato, poichè le singole propaggini sono divise l'una dall'altra da solchi stretti profondamente incisi ».

Le dimensioni sono molto varie da cellula a cellula, perchè nei diversi elementi, ferma restando la grandezza del nucleo, il protoplasma al contrario può presentarsi in quantità più o meno abbondanti. Non si possono quindi dare delle misure, sia pure come media approssimativa. Su ciò le vedute degli autori sono completamente concordi, ma il disaccordo si ha ed anche grande per ciò che riguarda l'intima struttura, sia del nucleo, sia del protoplasma.

In quanto al protoplasma Unna ha sostenuto sempre che esso è costituito da uno spongioplasma alveolare e da un granoplasma granulo-amorfo racchiuso nelle cavità alveolari e tingibile fortemente coi colori basici di anilina e specialmente col bleu di metilene policromo e colla pironina. Questo concetto di Unna, seguito con poche varianti da quasi tutti gli autori, è in parte erroneo. Se si esamina infatti una plasmacellula a fortissimo ingrandimento e con luce viva ci si può facilmente persuadere che la sostanza tingibile non è racchiusa negli alveoli spongioplasmatici, ma sono invece le pareti alveolari che si presentano più o meno fortemente colorate.

Racchiusa al contrario dentro le cavità alveolari vi è una sostanza che non si colora affatto con i nostri metodi di colorazione.

« La massa principale di una plasmacellula — dice Maximow (28) — è costituita da una spessa e compatta impalcatura reticolare, il cui spongioplasma, come io brevemente lo chiamo, si tinge molto intensamente ed in modo caratteristico tanto col bleu di metilene, come coll'ematossilina ferrica, o col verde di metile e pironina, mentre gli spazî occupati dallo ialoplasma rimangono chiari ». Di tale sostanza acromatica racchiusa negli alveoli ci sono ignote la natura e la funzione; di essa sappiamo solo, che in certi processi regressivi che colpiscono la plasmacellula, e specialmente nella cosidetta degenerazione vacuolare, essa aumenta notevolmente di quantità.

In quanto allo spongioplasma, esso si presenta con una struttura nettamente alveolare. Non posso confermare l'osservazione di Maximow (28), il quale parla di struttura reticolare con fili e lamelle. Il protoplasma appare costituito da tante piccole vescichette di eguale dimensione. R. Vogt (46) ammette la struttura spugnosa, ma con alveoli irregolari. Egli dice che « nei preparati alquanto scolorati la struttura ricorda una sezione di una spugna con irregolare alternativa di grandi e piccoli fori chiari, dei quali lo spazio

centrale chiaro è il più grande ». Nello stesso senso si esprime anche Dubreuil (8). Altri autori come Cajal (4), França e Athias (16), Pirone (34) hanno descritto dei veri vacuoli. Io ritengo che questi vacuoli siano da considerare come dovuti ad un processo di alterazione regressiva nel protoplasma della plasmacellula. Essi si osservano nelle plasmacellule più vecchie. Le plasmacellule comparse da poco, e quindi più giovani e più vitali, presentano un protoplasma regolarmente alveolare, senza veri vacuoli. Che le plasmacellule vadano incontro facilmente a processi regressivi è un fatto, che ha colpito tutti gli osservatori.

Non sono concordi i pareri intorno all'aspetto della sostanza tingibile. Si sa che questa sostanza presenta una forte affinità per la pironina, il bleu policromo, il bleu di toluidina, la tionina: con questi due ultimi colori offre una chiara metacromasia. Si discute però, se essa è una sostanza omogenea o granulosa. Secondo Unna (41) essa ha aspetto granuloso, ma i granuli son cosi fini che si riconoscono a stento anche con i più forti ingrandimenti. Jadasshon (21), Schlesinger (39) e Maximow (28) anche usando i più forti ingrandimenti non riescono a discernere vere granulazioni. Maximow ritiene anche disadatta l'espressione di Marschalkó (27), il quale dice che il protoplasma è "*krümelig*". Per Nissl (29) « non si tratta di granuli nettamente delimitati, ma di una sostanza a blocchi, in cui si possono vedere di regola dei punti più chiari ». Egli conclude, che tale sostanza « non è nè omogenea, nè propriamente granulosa ». Weidenreich (48) esprime lo stesso concetto di Unna. « La sostanza fortemente tingibile sembra composta di granuli straordinariamente piccoli ed eguali, che tuttavia non appaiono del tutto distinti e sono inclusi irregolarmente in una massa fondamentale più chiara ». Da ciò si vede, come sia abbastanza difficile precisare l'aspetto della sostanza basofila delle plasmacellule e come debba essere accolta con grande riserva l'affermazione di alcuni autori, come Bosellini (3), Hoffmann (20), Klippel e Pierre Weil (34), Pirone (17), Greggio (23), che parlano correntemente di granulazioni del protoplasma. Certo il protoplasma non è colorato in modo omogeneo; vi sono parti più o meno dense, ma non si può affatto parlare di granulazioni vere e proprie, come ad es. quelle dei leucociti granulosi. Del resto questa questione mi pare che abbia poca importanza: qui si va al di là della vera e propria morfologia, ed è assai verosimile, che, come pensa Schaffer (38), l'aspetto del protoplasma possa essere influenzato da minime variazioni della azione fissatrice.

La sostanza tingibile è per lo più ammassata in maggiore quantità verso la periferia del corpo cellulare. Il centro, accanto al nucleo o intorno ad esso, è la parte che di solito si presenta meno colorata. Marschalkó (26) prima e poi la maggior parte degli autori hanno anzi descritto, come un carattere delle plasmacellule, la presenza di un alone chiaro intorno al nucleo. Secondo Maximow (28) esso non rappresenta altro che un *archiplasma* coll'apparato dei centrosomi. Hoffmann (19) dice, che « questo alone chiaro mostra una struttura alveolare, qualche volta appare come una massa quasi omogenea, la

quale senza netto contorno sfuma nel circostante citoplasma ». « Poichè lo spazio chiaro compare in vicinanza del nucleo, è verosimile che esso sia un prodotto di quest'ultimo ». Secondo Dubreuil (8) immediatamente attorno al nucleo il protoplasma è omogeneo e vitreo, Schaffer (38) con Joannovics (22) ritiene « più verosimile, che lo spazio chiaro corrisponde ad una parte centrale del protoplasma ancora libera di sostanza basofila ». Unna non ha mai ritenuto l'alone chiaro perinucleare come proprietà normale della plasmacellula tipica; esso è un segno di incipiente atrofia della sostanza basofila. Di tale parere sono anche Rubens Duval (37) e Greggio (17), che ultimamente si sono occupati dell'argomento.

In base alle mie osservazioni io debbo decisamente aderire a questa veduta di Unna. Tanto nei processi sperimentali, quanto nei processi patologici umani si riscontra una notevole quantità di plasmacellule, che non possiedono affatto questo spazio chiaro. Ora appunto queste plasmacellule sono quelle che hanno un protoplasma meno sviluppato e più intensamente colorato e che perciò sono da ritenere come elementi più giovani. Nel caratteristico processo di atrofia che colpisce gran numero delle cellule a protoplasma più ricco lo scoloramento del protoplasma progredisce tutto intorno partendo da questa zona centrale sicchè esso invade progressivamente tutta la cellula.

Intorno alla natura di questa sostanza tingibile si sa ben poco. Joannovics (18), basandosi sul fatto, che le plasmacellule si son trovate in tutti quei processi patologici in cui avviene una distruzione di cellule e una messa in libertà di sostanze cromatiche nucleari, emette l'ipotesi, seguita anche da Schaffer (38) e da altri, che la sostanza tingibile sia data dall'assorbimento delle sostanze nucleari delle cellule distrutte. Bosellini (3) rileva che « le reazioni coloranti non concordano a dimostrare che si tratti di cromatina perfetta ». Egli pensa che la sostanza tingibile sia « almeno in parte una massa nucleoide destinata a costituire il nucleo di una cellula figlia ». Queste, a dir vero, non sono che semplici congetture.

Più vicine al vero mi sembrano le ipotesi di Almkvist (1) e di De Buck (7), che si tratti cioè di una sostanza di secrezione, che ha una parte nell'attività funzionale di questi elementi. Poichè la sostanza basofila è un elemento costante ed integrante del protoplasma di queste cellule, poichè essa è più abbondante nelle cellule giovani, mentre poi si atrofizza nelle vecchie e scompare in quelle che subiscono processi degenerativi, è ben naturale considerarla come qualcosa di essenziale per l'attività normale di questi elementi.

Veniamo ora ai caratteri morfologici del nucleo. Marschalkó (26) fu il primo a richiamare l'attenzione su di essi, dandone una descrizione che poi è stata generalmente seguita dagli altri autori. Il nucleo è eccentrico, relativamente piccolo, ha forma rotonda od ovale, presenta dei granuli di cromatina assai grossi, regolarmente disposti in numero di 5-8 alla periferia, aderenti alla membrana nucleare ed equidistanti tra di loro, ed un nucleolo centrale.

Unna ha sostenuto e sostiene ancora (43), che colla colorazione protoplasmatica il nucleo della plasmacellula si presenta come una macchia più

chiara nel protoplasma fortemente colorato. A tale modo di vedere si oppose Marschalkó (26) asserendo che tale aspetto del nucleo era dato da una eccessiva decolorazione. Questa deve essere condotta con precauzione, altrimenti il nucleo si decolora completamente, mentre il protoplasma rimane, principalmente nelle parti marginali, come una massa irregolarmente disposta ancora colorata.

Non è di questo avviso invece Krompecher (24). Che le plasmacellule a nucleo vescicolare — egli afferma nel suo lavoro — non sono un prodotto di decolorazione, lo dimostra il fatto, che esse si presentano tali sia con una decolorazione più debole sia con la più forte ed anche perchè tra queste plasmacellule ve n'è di quelle del tutto normali. Per Krompecher le plasmacellule a nucleo vescicolare sono schiettamente patologiche. Almkvist (1) le ritiene invece come rappresentanti delle plasmacellule descritte da Unna e derivanti dal connettivo, da distinguersi da quelle descritte da Marschalkó, che invece, secondo l'autore, derivano dai leucociti. Anche Schlesinger (39) ammette questi due tipi di plasmacellule, però non come specie diverse, ma come forme della stessa specie ed entrambe di origine ematogena. Accennando alla supposizione di Marschalkó, egli dice: « mi potei convincere nei miei preparati, che non esiste un reale influsso della diversa forza della decolorazione sulla struttura cromatinica ».

Secondo Bosellini (3) la plasmacellula « è provvista di nucleo a granuli cromatinici ben distinti e fortemente colorabili finchè non subisca degenerazioni. Se Unna e Almkvist lo descrissero pallido, la ragione va ricercata in fatti degenerativi ». Ed in altra parte del suo lavoro, notando come gli esami di questi autori furono portati sul *lupus* « nel quale sono molto precoci i processi degenerativi », prosegue: « io stesso ho esaminato questi tessuti ed ho potuto vedere che dove questi processi degenerativi non sono ancora avviati, le plasmacellule presentano un nucleo con granuli cromatinici ben distinti ».

Le mie osservazioni mi portano a condividere pienamente l'affermazione di Krompecher e di Bosellini. Specialmente nei preparati di processi tubercolari di vari organi, riscontrai plasmacellule con nucleo vescicolare, i cui granuli cromatinici o erano estremamente impiccoliti o totalmente scomparsi. In tutti questi casi il nucleo per lo più era rigonfio e frequentemente presentava uno o più grossi vacuoli chiari.

Un carattere, che non è stato ancora abbastanza tenuto in considerazione, riguarda la grandezza del nucleo. Le plasmacellule hanno un nucleo piccolo. Esso nell'uomo si presenta un po' più grande che nel cane e nel coniglio. Nell'uomo le dimensioni oscillano intorno ai 4 μ (fig. 26) di diametro, nel cane e nel coniglio sono in media di 3 μ (fig. 24 e 25). Finchè la plasmacellula tipica è allo stato normale, queste dimensioni si mantengono le stesse, ma quando sopravvengono dei fatti di alterazione regressiva il nucleo può diventare più piccolo e picnotico o anche più grande e vescicolare. In ogni modo queste variazioni di grandezza sono sempre accompagnate da altri fenomeni, che colpiscono in particolar modo la cromatina del nucleo o tutta quanta la cellula.

Schlesinger (39) ha voluto richiamare l'attenzione su di un fatto non menzionato da altri, che egli crede importante per la comprensione della genesi delle plasmacellule. « Come noi abbiamo — egli dice — grandi e piccoli linfociti (o piuttosto linfociti a nucleo grande ed a nucleo piccolo), così trovai anche in quasi tutti i casi plasmacellule a nucleo grande ed a nucleo piccolo ». Anche secondo Nissl (29) « la grandezza del nucleo oscilla assai notevolmente ». Io non posso associarmi a questi autori, i quali evidentemente hanno accomunato alle plasmacellule altri elementi cellulari.

Un altro carattere importante per la diagnosi differenziale riguarda la forma del nucleo. Tutti i più autorevoli osservatori da Unna a Marschalkó ed a Maximow lo hanno descritto nella cellula in condizioni normali come regolarmente rotondo od ovale. La fissazione pare che non influisca affatto su questa regolarità della forma nucleare.

Per quanto riguarda la colorazione io trovai che tanto la membrana nucleare quanto i grossi granuli di cromatina del nucleo colla miscela di Pappenheim-Unna si colorano in verde, color verde che si riscontra anche nei leucociti a nucleo polimorfo e che non si ha invece nei grandi mononucleati basofili, sia circolanti nel sangue, sia emigrati dal sangue nei tessuti. In questi elementi si hanno, come ha potuto osservare lo stesso Pappenheim (30), diverse gradazioni di colorazione bleu violacea.

La colorazione colla miscela Pappenheim-Unna si presta anche molto bene per mettere chiaramente in evidenza il nucleolo. La tionina e il bleu di toluidina dànno al nucleolo una colorazione metacromatica violetta, ma il più delle volte, se la differenziazione non è stata sufficiente, o se masse di cromatina nucleare circondano il nucleolo, è molto difficile distinguere questa parte del nucleo. Perciò forse qualche autore, come per es. Hoffmann (20), ha messo in dubbio che nel nucleo della plasmacellula esista un vero nucleolo. Colla miscela di pironina e verde di metile questo prende una colorazione rossa splendente in netto contrasto colla colorazione verde di tutta quanta la cromatina nucleare. Un fatto importante e che cogli altri caratteri descritti serve a nettamente differenziare questa categoria di cellule da altre somiglianti è che il nucleolo nella plasmacellula tipica è sempre unico e relativamente piccolo; non si ha cioè un numero vario di nucleoli come nei leucociti grandi mononucleati o i grossissimi nucleoli delle cellule endoteliali basofile.

Il nucleolo della plasmacellula si può presentare isolato nel mezzo del nucleo, che in questo caso viene a prendere con la disposizione marginale dei granuli cromatinici una forma caratteristica designata col nome di nucleo a ruota (*Radkern*). Però ho potuto osservare che per lo più il nucleolo è attaccato ad un grosso granulo di cromatina più grosso dello stesso nucleolo, che da Marschalkó e da qualche altro autore è stato probabilmente scambiato per un altro nucleolo, forse per il fatto che le colorazioni adoperate non ne permettevano una netta differenziazione. Questo grosso granulo di cromatina si può trovare anche distaccato dal nucleolo. Qualche volta invece di un solo granulo possono trovarsi attaccati al nucleolo due granuli eguali o di differente gran-

dezza insieme uniti oppure situati l'uno ad un polo e l'altro al polo opposto del nucleolo. In certi casi questi granuli sono in numero di tre. In alcune plasmacellule il nucleolo è circondato da zolle basofile, che, se molto spesse, lo possono nascondere quasi totalmente. Alle volte lo circondano come un anello, che può essere anche esilissimo, altre volte invece prendono la forma di semiluna. Possono finalmente trovarsi benissimo dei nucleoli con 1-2 granuli di cromatina insieme alle zolle in forma di anello o di semiluna.

In generale le plasmacellule tipiche e normali presentano il nucleo con siffatti caratteri, i quali insieme a quelli del protoplasma servono benissimo a stabilirne l'identificazione. In certi elementi però si hanno nel nucleo certe deviazioni di struttura, che ne rendono qualche volta difficile l'identificazione. Ciò si può osservare tanto nell'uomo, quanto nel cane e nel coniglio; in questi animali anzi con maggiore frequenza. Per lo più si tratta o di una scarsità dei grossi granuli cromatinici o di una distribuzione irregolare nell'interno del nucleo, per cui non si ha la caratteristica disposizione periferica. Alle volte invece dei grossi granuli ed anche a questi frammisti si possono avere dei piccoli granuli. In molti di questi elementi si può avere pure una certa irregolarità della forma nucleare paragonabile in certo qual modo al polimorfismo che si osserva nelle pseudoplasmacellule. Bisogna quindi riconoscere, che in singoli casi questi elementi possono offrire straordinarie difficoltà di diagnosi rispetto alle pseudoplasmacellule ed in particolar modo á quelle a piccolo nucleo.

In accordo con quanto ha scritto Maximow (28), che su queste deviazioni di tipo della plasmacellula normale ha fatto uno studio particolareggiato, è lecito pensare, che esse non siano da considerarsi come forme stabili, ma come plasmacellule che non hanno ancora raggiunto il tipo normale, che cioè sono in via di formazione. A conferma di ciò sta il fatto, che esse sono più numerose nei processi patologici, in cui la formazione delle plasmacellule avviene in modo rapido e tumultuario. Secondo Maximow esse emigrerebbero dai focolai d'infiltrazione nei tessuti ed ivi successivamente si trasformerebbero più o meno completamente in plasmacellule tipiche.

Questo stesso autore le ha designate col nome di *plasmacellule atipiche*, Nei diversi processi patologici, ove le possiamo riscontrare, sono sempre in minore quantità rispetto alle tipiche. Se quindi da una parte noi non le possiamo considerare come una categoria a parte di elementi cellulari, poichè non rappresentano un tipo stabile e definitivo ma semplicemente forma di transizione delle plasmacellule tipiche, dall'altra si presentano come un'eccezione alla particolare morfologia della schietta plasmacellula.

Le plasmacellule tipiche normali rappresentano invece, come osserva von den Leyen (47) « una specie di cellule caratteristica per forma e colorabilità ». A distinguere questa specie concorrono, come abbiamo visto, molti caratteri, che presi insieme dànno la figura netta della plasmacellula, ma nessuno di essi singolarmente preso è caratteristico e speciale. A voler dare la preponderanza ai caratteri morfologici, come Marschalkó, o semplicemente

ai caratteri tintoriali, come Unna, Enderlen e Justi (9), Nissl, si rischia di cadere facilmente in errori d'interpretazione, la qual cosa del resto è avvenuta in molti lavori sperimentali riguardanti l'origine delle plasmacellule.

Maggiore confusione ha portato Pappenheim (31) colla sua dottrina sulle plasmacellule. Secondo questo autore « il tipo di cellula di Marschalkó non è in nessuna maniera il rappresentante di tutta una specie di cellule, ma le grandi cellule con nucleo a ruota rappresentano soltanto un determinato stadio di uno sviluppo citologico, mentre il trovarsi del granoplasma cromofilo (in cellule con nucleo da leucociti, nucleo a ruota, nucleo vescicolare) è soltanto l'espressione di un determinato stato funzionale individuale ». Egli considera come plasmacellule, esclusi i leucociti polinucleati, tutti gli elementi degli essudati infiammatorî che secondo lui deriverebbero dagli elementi del tessuto e cioè le cellule dall'aspetto dei grandi e piccoli linfociti, i grandi leucociti con un orlo più o meno stretto di granoplasma o addirittura senza granoplasma, le plasmacellule di Marschalkó, quelle patologiche di Krompecher e le istiogene di Joannovics con nucleo vescicolare. Così « Pappenheim — per usare le parole di Veratti (45) — viene a sostituire arbitrariamente al concetto primitivo di Unna, basato sui caratteri morfologici e tintoriali, una distinzione fondata sulla origine ». D'altra parte io ritengo che potrebbe aver valore l'affermazione di Pappenheim, che le plasmacellule rappresentano semplicemente un determinato stadio di sviluppo delle cellule rotonde leucocitoidi del tessuto di granulazione, soltanto quando fosse ben dimostrato che tutte queste in una certa fase del processo infiammatorio si trasformano in plasmacellule tipiche di Marschalkó. Noi sappiamo al contrario che tra le cellule libere del tessuto di granulazione quelle, per es., dall'aspetto dei grandi leucociti mononucleati, le quali per la basofilia, che il loro protoplasma assume, più facilmente possono scambiarsi colle plasmacellule, non raggiungono mai (Schottländer, Krompecher, Bosellini, Marschalkó, Maximow) il vero tipo morfologico di questi elementi.

I criterî indicati da Nissl (29) per la identificazione delle plasmacellule e che hanno avuto largo seguito nella sua scuola mi sembrano molto vaghi e possono dar luogo a false interpretazioni. Nissl in sostanza ripresenta la questione così come da Unna era stata enunciata sin dai primi anni dello studio delle plasmacellule. Egli infatti considera come criterio più importante per questi elementi il comportamento del corpo cellulare di fronte alle sostanze coloranti basiche.

Quest'opinione non mi sembra accettabile, essendo la basofilia un carattere che può comparire sotto l'azione di varî agenti infettivi o tossici in altri elementi di varia natura che potrebbero, affidandosi a questo solo criterio, venire in certe condizioni facilmente confusi con le plasmacellule, per es., i fibroblasti, le cellule giganti, i poliblasti, le cellule endoteliali, gli osteoblasti. I caratteri morfologici nucleari indicati da Marschalkó, che solo potrebbero permetterne la diagnosi differenziale non sono da Nissl ritenuti necessari al concetto di plasmacellula. Egli infatti afferma che la posizione dei corpi cro-

matinici al margine del nucleo non è carattere distintivo delle plasmacellule. Come pure non dà nessun valore alla grandezza del nucleo e neppure al suo contenuto in cromatina. « Plasmacellule colorate con varia intensità, egli scrive, si trovano insieme raggruppate sia con nucleo chiaro od oscuro, sia ricco o povero di cromatina ». Concludendo Nissl considera come plasmacellule « tutti quegli elementi, che sono ben delimitati esternamente, che posseggono una sostanza cellulare colorantesi fortemente colle soluzioni acquose dei colori basici (bleu di metilene, bleu di metilene policromo, cresylvioletto, toluidina, tionina, rosso neutro, ecc.), sostanza che non è nè omogenea, nè propriamente granulosa, e che non sono nè *Gitterzellen,* nè fibroblasti, nè cellule endoteliali, nè linfociti ed elementi linfocitoidi, nè *Mastzellen* ». Questa definizione, fatta per esclusione, si basa sopratutto su reperti ottenuti negli stadî precoci delle encefaliti sperimentali, dove noi abbiamo potuto invece osservare altri elementi a protoplasma intensamente basofilo, che precisamente per la varietà dei caratteri nucleari indicati da Nissl si possono tener distinti dalle plasmacellule tipiche.

Questi elementi cellulari rappresentano, come abbiamo visto, leucociti grandi mononucleati basofili. Essi oltre a trovarsi nel sangue circolante e negli organi ematopoietici possono emigrare nei tessuti di granulazione infiammatoria, ove ingranditi vengono a simulare più facilmente le plasmacellule.

Hodara (18) fu il primo a richiamare l'attenzione dei patologi sulla particolare struttura di questi elementi e sulle differenze morfologiche, che tra essi e le plasmacellule intercedono. Egli notò pure come gli elementi riscontrati da Jadasshon (21) e da Marschalkó (26) negli organi ematopoietici e da questi autori interpretati come plasmacellule non avevano invece le caratteristiche morfologiche di questi elementi, e che si dovevano ritenere come leucociti grandi mononucleati a protoplasma basofilo, o pseudoplasmacellule. Tali elementi riscontrò anche nell'interno dei vasi sanguigni nettamente circondati da endotelî.

Sappiamo pure che in seguito ai lavori di Hodara, di Schottländer (40) e specialmente di Krompecher (24), dei quali i due ultimi li avevano riscontrati in processi infiammatorî, lo stesso Marschalkó (27) riconobbe che questa categoria di elementi cellulari doveva essere tenuta distinta dalle plasmacellule tipiche per differenze morfologiche e per derivazione.

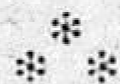
Anche Bosellini (3) notò che mancano a queste cellule i caratteri morfologici fondamentali delle plasmacellule e che dei granulomi cutanei da lui esaminati alcuni contenevano plasmacellule, altri invece pseudoplasmacellule. Di tali elementi trovò pure nel fegato di coniglio causticato con acido fenico. I risultati di questa ricerca sperimentale sono in contrasto con quelli di Marschalkó (26), che trovò invece delle plasmacellule e con quelli di Joannovics (22), che ebbe gli stessi risultati di Marschalkó nel fegato di cavia.

Maximow (28) nelle sue ricerche sperimentali sulla neoformazione infiammatoria del tessuto connettivo constatò le differenze morfologiche che cor-

rono tra i poliblasti (pseudoplasmacellule) e le plasmacellule tipiche e notò pure che la loro rispettiva comparsa nel campo infiammatorio avviene in tempi diversi: negli stadî precoci compaiono i poliblasti, le plasmacellule invece si presentano nel tessuto di granulazione infiammatorio in stadî più avanzati. È anche molto interessante la constatazione fatta dallo stesso Maximow, che i poliblasti non si trasformano mai in plasmacellule.

Foà (14), esaminando la milza alla terza e quarta settimana dell'infezione tifosa trovò costantemente alla periferia dei follicoli malpighiani ed intorno ai vasi sanguigni gruppi di cellule intensamente basofile grandi e ricche di protoplasma. Tali elementi riscontrò anche nella milza di cavie e di conigli iniettando nella cavità addominale di questi animali sia gli estratti acquosi di bacilli del tifo o di *bacillus coli,* sia una sospensione di detti bacilli spenti coll'etere o col cloroformio. L'autore non identifica questi elementi colle plasmacellule; parla di cellule a tipo plasmacellulare, di reazione pseudoplasmacellulare della milza nel tifo (15).

Infine recentemente Catòla (5) nei vasi della milza e dei ganglî linfatici di due paralitici ha trovato e descritto degli elementi assai simili alle plasmacellule, ma che per i loro caratteri morfologici e tintoriali egli considera come dei leucociti mononucleati basofili. Quest'autore avanza l'ipotesi « che quegli stessi stimoli tossici che agendo sulle cellule connettivali sono capaci di modificarne e reazioni chimiche e morfologia possano, esplicando la loro azione sopra una determinata categoria di leucociti, modificare più o meno profondamente anche il loro chimismo e con ciò le loro reazioni cromatiche ».



Concludendo, io ritengo che le pseudoplasmacellule debbano essere tenute a parte dalle vere plasmacellule, come una specie cellulare distinta, per le loro proprietà morfologiche, per la provenienza, il modo di moltiplicazione e forse anche per il loro significato.

Le pseudoplasmacellule sono dei grandi leucociti mononucleati, che sotto speciali condizioni presentano un protoplasma basofilo. Nel tessuto di granulazione infiammatoria e negli organi ematopoietici esse acquistano un protoplasma abbondante, che conferisce ad esse una grandezza due e tre volte maggiore di quella degli elementi che si trovano nel sangue circolante.

Non è in base ai caratteri del protoplasma che può stabilirsi la diagnosi differenziale. Tanto nelle plasmacellule quanto nelle pseudoplasmacellule si ha un protoplasma a struttura alveolare fortemente basofilo.

I caratteri distintivi essenziali invece sono da ricercarsi nel nucleo. Esso è in massima più grande di quello delle plasmacellule, non solo, ma presenta anche notevoli differenze di grandezza e di forma da elemento ad elemento. In alcuni elementi si presenta più oscuro in altri invece molto chiaro e vescicoloso. Contiene granuli di cromatina in quantità variabile di diversa grandezza

ed a distribuzione irregolare. In complesso la cromatina nucleare è più scarsa che nelle plasmacellule tipiche. Di più, mentre i nuclei delle plasmacellule col metodo di Pappenheim-Unna si tingono in verde, quelli delle pseudoplasmacellule si colorano in azzurro violaceo. E finalmente, fatto questo molto caratteristico, essi contengono frequentemente due, tre, e persino quattro nucleoli, mentre i nuclei delle plasmacellule ne possiedono uno solo.

Le pseudoplasmacellule si moltiplicano prevalentemente per cariocinesi. Durante il processo di divisione il protoplasma conserva sempre la sua basofilia.

Dalle mie osservazioni non risulta alcun elemento di fatto che deponga in favore della ipotesi di una derivazione delle plasmacellule dalle pseudoplasmacellule. Queste sono talvolta degenerate e scomparse prima ancora che le plasmacellule tipiche entrino in campo.

È verosimile che le pseudoplasmacellule stiano in rapporto con processi infiammatorî acuti, mentre le vere plasmacellule sarebbero caratteristiche dei processi a decorso lento e prolungato.

Bibliografia.

(1) Almkvist. Beiträge zur Kenntniss der Plasmazellen, insbesondere beim Lupus. « Archiv für Dermatologie und Syphilis », Bd. 58, S. 91, 1901.

(2) Almkvist. Ueber die Emigrations-Fähigkeit der Lymphocyten. « Virchows Archiv », Bd. 169, S. 17, 1902.

(3) Bosellini. Delle così dette *Plasmazellen* nei granulomi cutanei. « Giornale italiano delle Malattie veneree e della pelle », fasc. 2-3, 1902.

(4) Cajal. Estudios histológicos sobre los tumores epiteliales. « Revista trimestral micrográfica », pag. 83, 1896.

(5) Catòla. Contributo allo studio dell'anatomia patologica della paralisi progressiva: alterazioni viscerali. Qualche considerazione sulle plasmacellule. « Rivista di Patologia nervosa e mentale », pag. 1, 1910.

(6) Cerletti. Ricerche sperimentali sull'origine dei plasmatociti (*Plasmazellen*). « Rendiconti della R. Accademia dei Lincei », serie V, vol. 16, 1907.

(7) De Buck. Les cellules plasmatiques de la paralysie générale. « Journal de Neurologie », tome 10, pag. 101, 1905.

(8) Dubreuil. Origine, destinée et appareil mitochondrial des *Plasmazellen* du grand épiploon chez le lapin. « Comptes rendus de la Société de Biologie de Paris », tome 67, p. 80 et 157, 1909.

(9) Enderlen und Justi. Beiträge zur Kenntniss der Unna'schen Plasmazellen. « Deutsche Zeitschrift für Chirurgie », Bd. 62, S. 82, 1901.

(10) Ferrata. Sui globuli bianchi mononucleati. « Archivio per le Scienze mediche », pag. 217, 1906.

(11) Fick. Aufklebe-Methode oder Schälchen-Methode bei der Färbung von Paraffinschnitten. « Centralblatt für allgemeine Pathologie und pathologische Anatomie », N. 15, 1905.

(12) Foà. Dell'azione di alcuni sieri citotossici sugli organi ematopoietici. « Archivio per le Scienze mediche », vol. 30, pag. 1, 1906.

(13) Foà. Sulla produzione cellulare nell'infiammazione e in altri processi analoghi con particolare riguardo alla produzione delle "plasmacellule". « Memorie della R. Accademia delle Scienze di Torino », serie II, tomo 52, pag. 259, 1903.

(14) Foà. Sopra la colorazione dei bacilli del tifo nei tessuti e sulla rigenerazione della polpa splenica nei tifosi. « Giornale della R. Accademia di Medicina di Torino », pag. 502, 1905.

(15) Foà. Contribuzione alla conoscenza degli elementi costitutivi della milza. « Atti della Società italiana di Patologia ». IV Riunione tenuta in Pavia dal 1° al 4 ottobre 1906, pag. 193.

(16) França et Athias. Les *Plasmazellen* dans les vaisseaux de l'écorce cérébrale dans la paralysie générale et la maladie du sommeil. « Comptes rendus des séances de la Société de Biologie », 15 février, 1902.

(17) Greggio. Significato e provenienza delle cellule ipercromocitoplasmiche *(Plasmazellen)* e loro importanza nel processo di cicatrizzazione normale e patologica. Treviso, Tip. Cooper. Trevigiana, 1909.

(18) Hodara. Y a-t-il de cellules plasmatiques *(Plasmazellen)* dans les organes hématopoïétiques normaux de l'homme? « Annales de Dermatologie et Syphilographie », tome 6, pag. 856, 1895.

(19) Hoffmann. Gregarinen oder Plasmazellen? « Münchener medizinische Wochenschrift », N. 47, 1904.

(20) Hoffmann. Ueber das Myelom, mit besonderer Berücksichtigung des malignen Plasmoms. Zugleich ein Beitrag zur Pläsmazellenfrage. « Beiträge zur pathologischen Anatomie und zur allgemeinen Pathologie », Bd. 35, S. 317, 1903.

(21) Jadasshon. Bemerkung zu Unna's Arbeit über seine Plasmazellen. « Berliner klinische Wochenschrift », Bd. 30, S. 222, 1893.

(22) Joannovics. Ueber das Vorkommen, die Bedeutung und Herkunft der Unna'schen Plasmazellen bei verschiedenen pathologischen Prozessen. « Zeitschrift für Heilkunde », Bd. 20, S. 159, 1899.

(23) Klippel et Pierre-Weil. De l'inflammation à cellules plasmatiques. « Archives de Médecine expérimentale et d'Anatomie pathologique », vol. 21, pag. 190, 1909.

(24) Krompecher. Beiträge zur Lehre von den Plasmazellen. « Beiträge zur pathologischen Anatomie und zur allgemeinen Pathologie », Bd. 24, S. 163, 1898.

(25) Marchand. Der Prozess der Wundheilung mit Einschluss der Transplantation. « Deutsche Chirurgie », Lief. 16, S. 124, 1901.

(26) Marschalkò. Ueber die sogenannten Plasmazellen: ein Beitrag zur Kenntniss der Herkunft der entzündlichen Infiltrationszellen. « Archiv für Dermatologie und Syphilis », Bd. 30, S. 3 und 241, 1895.

(27) Marschalkó. Zur Plasmazellenfrage. « Zentralblatt für allgemeine Pathologie und pathologische Anatomie », Bd. 10, S. 851, 1899.

(28) Maximow. Experimentelle Untersuchungen über die entzündliche Neubildung von Bindegewebe. « Fünftes Supplementheft der Beiträge zur pathologischen Anatomie und zur allgemeinen Pathologie », 1902.

(29) Nissl. Zur Histopathologie der paralytischen Rindenerkrankung. « Histologische und histopathologische Arbeiten über Grosshirnrinde », Bd. 1, S. 347, 1904.

(30) Pappenheim. Wie verhalten sich die Unna'schen Plasmazellen zu Lymphocyten? « Virchow's Archiv », Bd. 166, S. 424, 1901.

(31) Pappenheim. Weitere kritische Ausführungen zum gegenwärtigen Stand der Plasmazellen-Frage. « Virchow's Archiv », Bd. 169, S. 372, 1902.

(32) Pappenheim. Atlas der menschlichen Blutzellen. Jena, 1905.

(33) Pappenheim. Unsere derzeitigen Anschauungen über Natur, Herkunft und Abstammung der Plasmazellen und über die Entwicklung der Plasmazellenfrage. « Folia haematologica ». Jahrgang 2, Supplement H. 2, S. 206, 1907.

(34) Pirone. Sur les cellules plasmatiques (*Plasmazellen*). « Folia haematologica », Jahrgang 7, S. 339, 1909.

(35) Porcile. Untersuchungen über die Herkunft der Plasmazellen in der Leber. « Beiträge zur pathologischen Anatomie und zur allgemeinen Pathologie », Bd. 36, S. 375, 1904.

(36) Righetti. Sulle alterazioni dei centri nervosi provocate dalla tossina difterica ». Rivista di Patologia nervosa e mentale », vol. 14, fasc. 9, 1909.

(37) Rubens-Duval. Cytologie des inflammations cutanées. (Citato da Greggio).

(38) Schaffer. Die Plasmazellen. Jena, G. Fischer, 1910.

(39) Schlesinger. Ueber Plasmazellen und Lymphocyten. « Virchow's Archiv », Bd. 169, S. 428, 1902.

(40) Schottlaender. Ueber Eierstockstuberkulose. Jena, Fischer, 1897.

(41) Unna. Ueber Plasmazellen, insbesondere bei Lupus. « Monatshefte für praktische Dermatologie », Bd. 12, S. 296, 1891.

(42) Unna. Histologischer Atlas zur Pathologie der Haut. Heft 6-7. Hamburg und Leipzig, L. Voss, 1903.

(43) Unna. Plasmazellen. « Encyclopädie der mikroskopischen Technik ». Berlin und Wien, R. Krause.

(44) Vanzetti e Parodi. Sulla produzione cellulare nelle encefaliti sperimentali. « Archivio per le Scienze mediche », pag. 497, 1905.

(45) VERATTI. Ricerche sulla origine delle *Plasmazellen*. Pavia, Bizzoni, 1905.

(46) VOGT R. Das Vorkommen von Plasmazellen in der menschlichen Hirnrinde, nebst einigen Beiträgen zur pathologischen Anatomie der Rindenerkrankungen. « Monatsschrift für Psychiatrie und Neurologie », Bd. 9, S. 211 und 260, 1901.

(47) VON DER LEYEN. Ueber Plasmazellen in pathologisch veränderten Geweben. (Citato da Schaffer).

(48) WEIDENREICH. Zur Morphologie und morphologischen Stellung der ungranulierten Leucocyten, Lymphocyten des Blutes und der Lymphe. « Archiv für mikroskopische Anatomie », Bd. 73, S. 793, 1909.

(49) WOLFF. Giebt es eine aktive Lymphocytose? « Deutsche Aerztezeitung », N. 18, 1901.

Spiegazione delle figure.

Tavola XIII.

FIGURA 1. — Pseudoplasmacellule riscontrate nelle leucocitosi sperimentali in sezioni di vene. — Fissazione in alcool assoluto e colorazione colla miscela di Pappenheim-Unna. Ingrandimento: diam. 1560.

FIGURA 2. — Sezione di un follicolo malpighiano della milza di un coniglio trattato con iniezioni ripetute di tubercolina Koch. Alla periferia del follicolo si ha una corona di pseudoplasmacellule. Fissazione e colorazione come sopra. Ingrandimento: diam. 100.

FIGURA 3. — Pseudoplasmacellule riscontrate nella polpa splenica dei conigli trattati con iniezioni ripetute di tubercolina Koch. Fissazione e colorazione come sopra. Ingrandimento: diam. 1560.

FIGURA 4. — Sezione trasversa di un piccolo vaso arterioso della milza di un coniglio trattato come sopra. Il vaso si presenta circondato da un gran numero di pseudoplasmacellule. — Fissazione e colorazione come sopra. Ingrandimento: diam. 850.

FIGURA 5. — Sezione longitudinale della vena splenica di un coniglio trattato con iniezioni ripetute di tubercolina. La figura rappresenta semplicemente il contenuto del vaso. Tra i corpuscoli rossi ed i leucociti a nucleo polimorfo si vede un gran numero di linfociti e di grandi leucociti mononucleati. Molti di questi ultimi presentano un protoplasma fortemente basofilo. — Fissazione e colorazione come sopra. Ingrandimento: diam. 500.

FIGURA 6. — Pseudoplasmacellule degenerate riscontrate al quarto giorno d'esperimento nel tessuto di granulazione prodotto nel cervello di un cane coll'inoculazione di tubercolina Koch. — Fissazione in alcool assoluto e colorazione coll'ematossilina ferrica di Heidenhain. Ingrandimento: diam. 1560.

FIGURA 7. — Gli stessi elementi della figura precedente colorati col bleu di metilene di Löffler.

FIGURA 8. — Gli stessi elementi delle due figure precedenti colorati colla miscela di Pappenheim-Unna. Dalla pseudoplasmacellula ancora ben colorata e che presenta un principio di rigonfiamento degli alveoli protoplasmatici si va all'elemento di molto rigonfio e pallidamente colorato. Ingrandimento: diam. 1560.

FIGURA 9. — Sezione trasversa di un piccolo vaso di milza di un coniglio trattato con iniezioni ripetute di tubercolina. Il vaso è circondato da un numero straordinariamente grande di pseudoplasmacellule. — Fissazione in alcool assoluto e colorazione colla miscela di Pappenheim-Unna. Ingrandimento: diam. 100.

FIGURA 10. — Sezione longitudinale di un vaso sanguigno di cervello di cane dopo due giorni dall'inoculazione di tossina difterica. Nel lume del vaso e nella guaina perivasale dilatata si vedono alcune pseudoplasmacellule. — Fissazione e colorazione come nella figura precedente. Ingrandimento: diam. 500.

FIGURA 11. — Pseudoplasmacellule con vacuoli chiari, che verosimilmente rappresentano spazi vuoti da gocciole di grasso disciolto dai reagenti. — Fissazione e colorazione come sopra. Ingrandimento: diam. 1560.

FIGURA 12. — Sezione trasversa di un vaso sanguigno di cervello di cane dopo sei giorni dall'inoculazione di tubercolina. La parete del vaso è circondata da cellule granulo-adipose e da pseudoplasmacellule. — Fissazione, colorazione ed ingrandimento come sopra.

FIGURA 13. — Pseudoplasmacellule in degenerazione vacuolare. — Fissazione, colorazione ed ingrandimento come sopra.

Figura 14. — Pseudoplasmacellule che si riscontrano nell' interno dei vasi sanguigni e tra le emazie del focolaio emorragico prodotto dall' inoculazione di tubercolina al terzo giorno di esperimento. — Fissazione, colorazione ed ingrandimento come sopra.

Figura 15. — Sezione di meninge piale di cane dopo un giorno dall' inoculazione di tubercolina nel parenchima cerebrale. Si vedono delle pseudoplasmacellule degenerate simili a quelle rappresentate a forte ingrandimento nella fig. 11. — Fissazione e colorazione come sopra. Ingrandimento: diam. 730.

Figura 16. — Sezione longitudinale di un vaso sanguigno situato in prossimità del punto d' inoculazione della tubercolina all' ottava giornata d' esperimento. Nell' interno del lume vasale tra le emazie si vedono delle pseudoplasmacellule. — Fissazione e colorazione come sopra. Ingrandimento: diam. 500.

Figura 17. — Pseudoplasmacellule che si trovano nel tessuto di granulazione prodotto dalla tubercolina. — Fissazione e colorazione come sopra. Ingrandimento: diam. 1560.

Tavola XIV.

Figura 18. — Sezione del tessuto di granulazione prodotto dalla tubercolina al dodicesimo giorno d' esperimento. Tra i fibroblasti, le cellule granulo-adipose e le emazie del focolaio emorragico si vedono numerose plasmacellule. — Fissazione in alcool assoluto, colorazione colla miscela di Pappenheim-Unna. Ingrandimento: diam. 500.

Figura 19. — Sezione del tessuto nervoso in prossimità del punto di inoculazione della tubercolina. Numerose plasmacellule tra le cellule nervose e le cellule di glia. — Fissazione e colorazione come sopra. Ingrandimento: diam. 580.

Figura 20. — Sezione di un vaso sanguigno di cervello di cane al quarto giorno dall' inoculazione di formolo. Molte cellule endoteliali si presentano ipertrofiche ed a protoplasma intensamente basofilo. — Fissazione e colorazione come sopra. Ingrandimento: diam. 500.

Figura 21. — Cellule endoteliali ipertrofiche e fortemente basofile. — Fissazione e colorazione come sopra. Ingrandimento: diam. 1560.

Figura 22. — Sezione di vaso sanguigno di polmone di cavia con tubercolosi generale sperimentale. Infiltrazione perivasale di elementi linfocitoidi e di pseudoplasmacellule. Al di sopra del vaso si vede una cellula gigante con cellule epitelioidi. — Fissazione e colorazione come sopra. Ingrandimento: diam. 500.

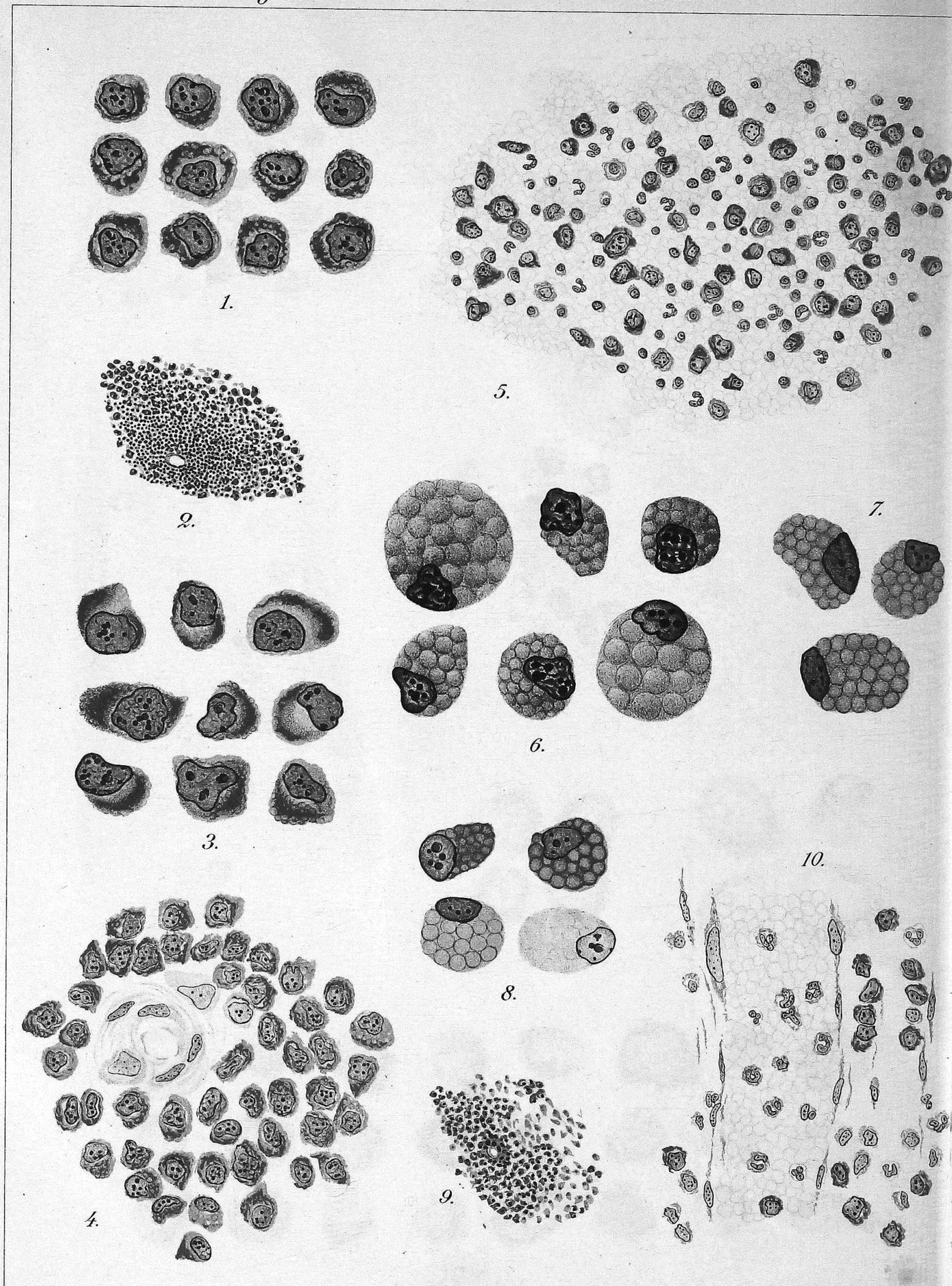
Figura 23. — Tessuto di granulazione prodotto dalla tossina difterica inoculata nel cervello di un cane (settimo giorno di esperimento). Numerose pseudoplasmacellule tra i fibroblasti, le cellule granulo-adipose e le emazie del focolaio emorrogico. — Fissazione e colorazione come sopra. Ingrandimento: diam. 580.

Figura 24. — Plasmacellule tipiche nella coccidiosi epatica di coniglio. — Fissazione e colorazione come sopra. Ingrandimento: diam. 1560.

Figura 25. — Plasmacellule tipiche riscontrate nel tessuto di granulazione infiammatorio prodotto dalla tubercolina al quattordicesimo giorno d' esperimento. — Fissazione, colorazione ed ingrandimento come sopra.

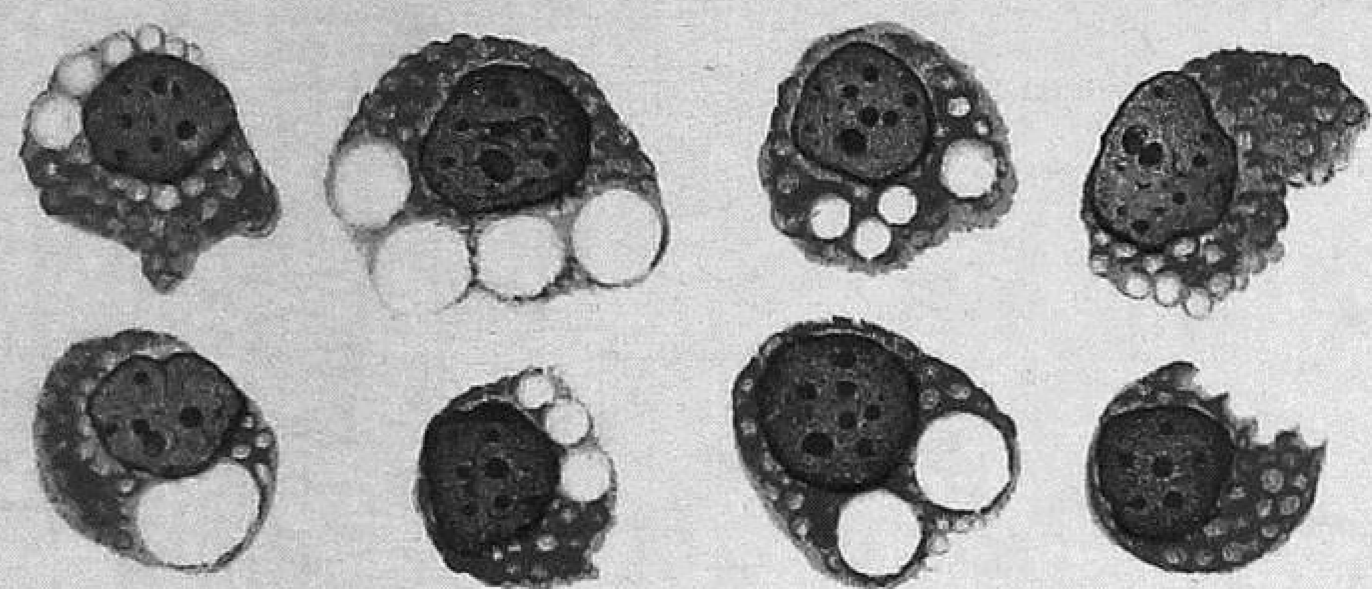
Figura 26. — Plasmacellule tipiche di una papula sifilitica. — Fissazione, colorazione ed ingrandimento come sopra.

Figura 27. — Ganglio linfatico di cavia con tubercolosi generale sperimentale. La figura rappresenta una parte del ganglio vicino ad un grosso focolaio caseoso. Intorno alla sezione di due vasi tra le cellule epitelioidi si vedono delle pseudoplasmacellule. — Fissazione e colorazione come sopra. Ingrandimento: diam. 500.

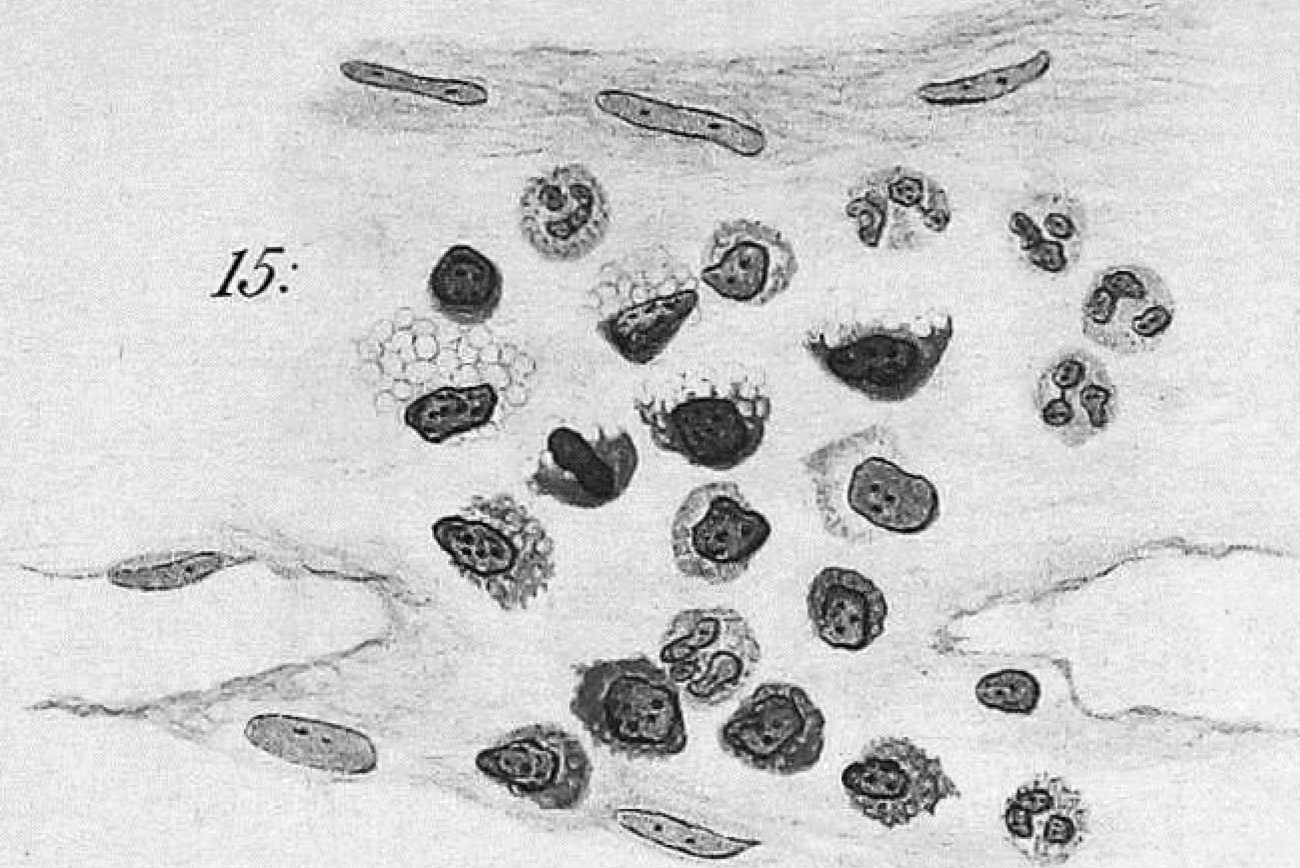


G. Papadia dis.

Papadia — *Le pseudoplasmacellule.*

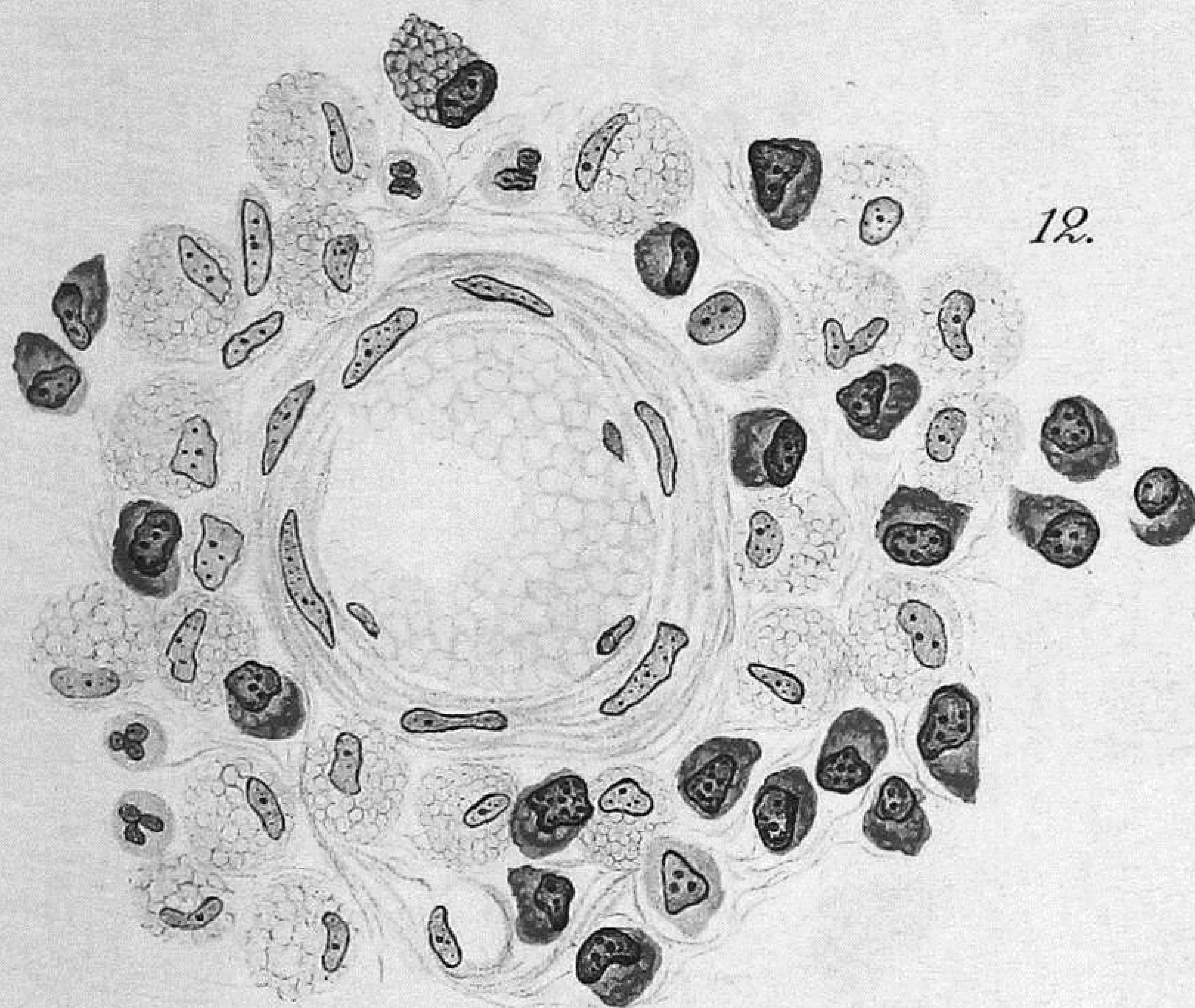


11.

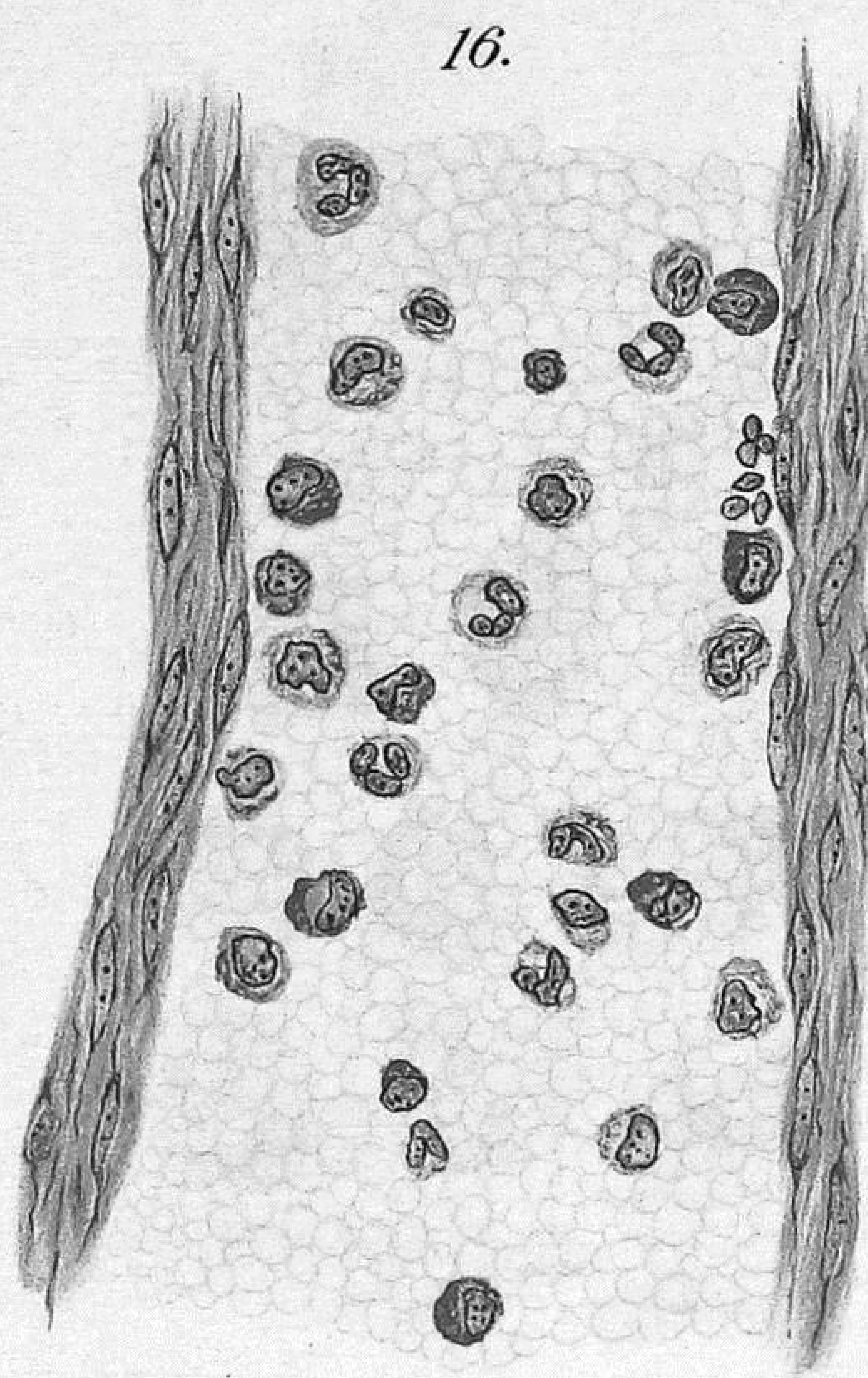


15.

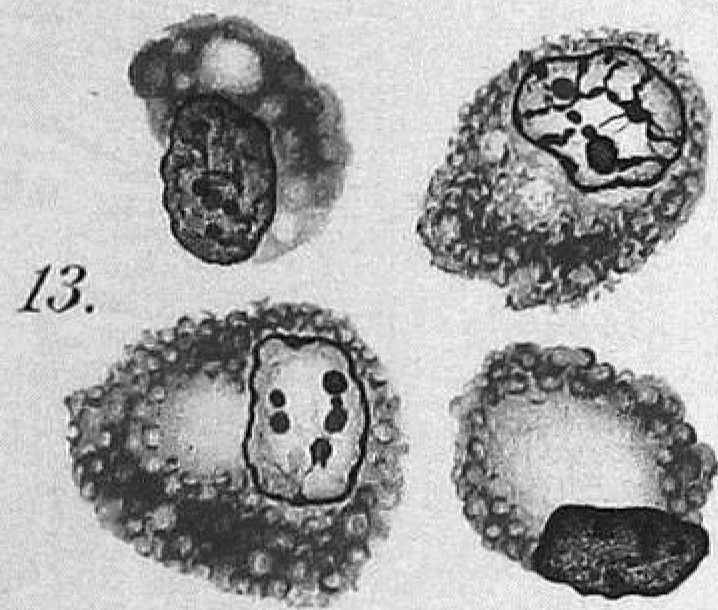
12.



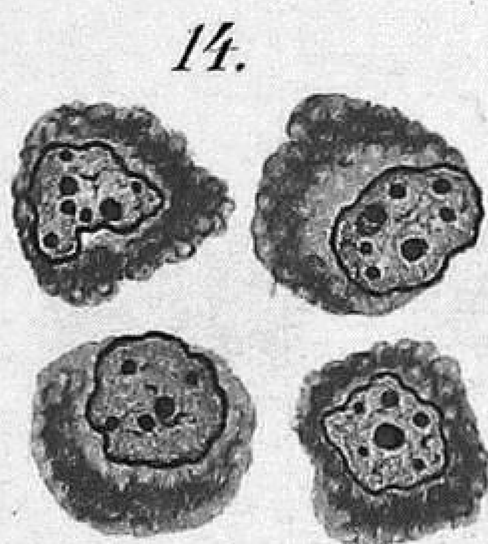
16.



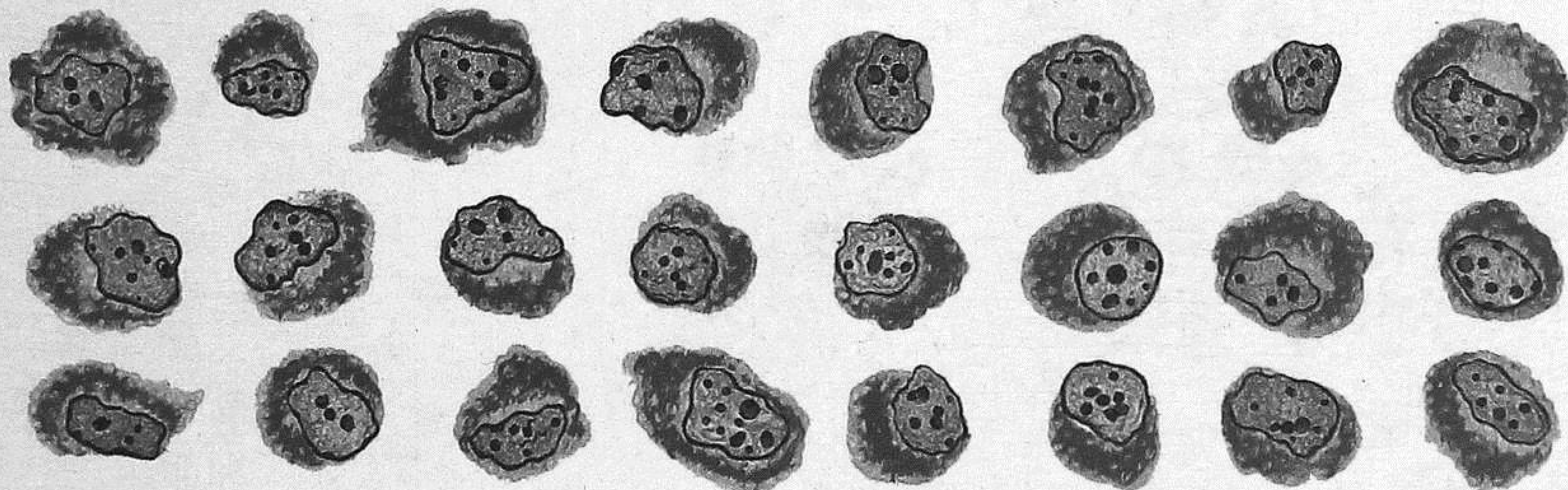
14.



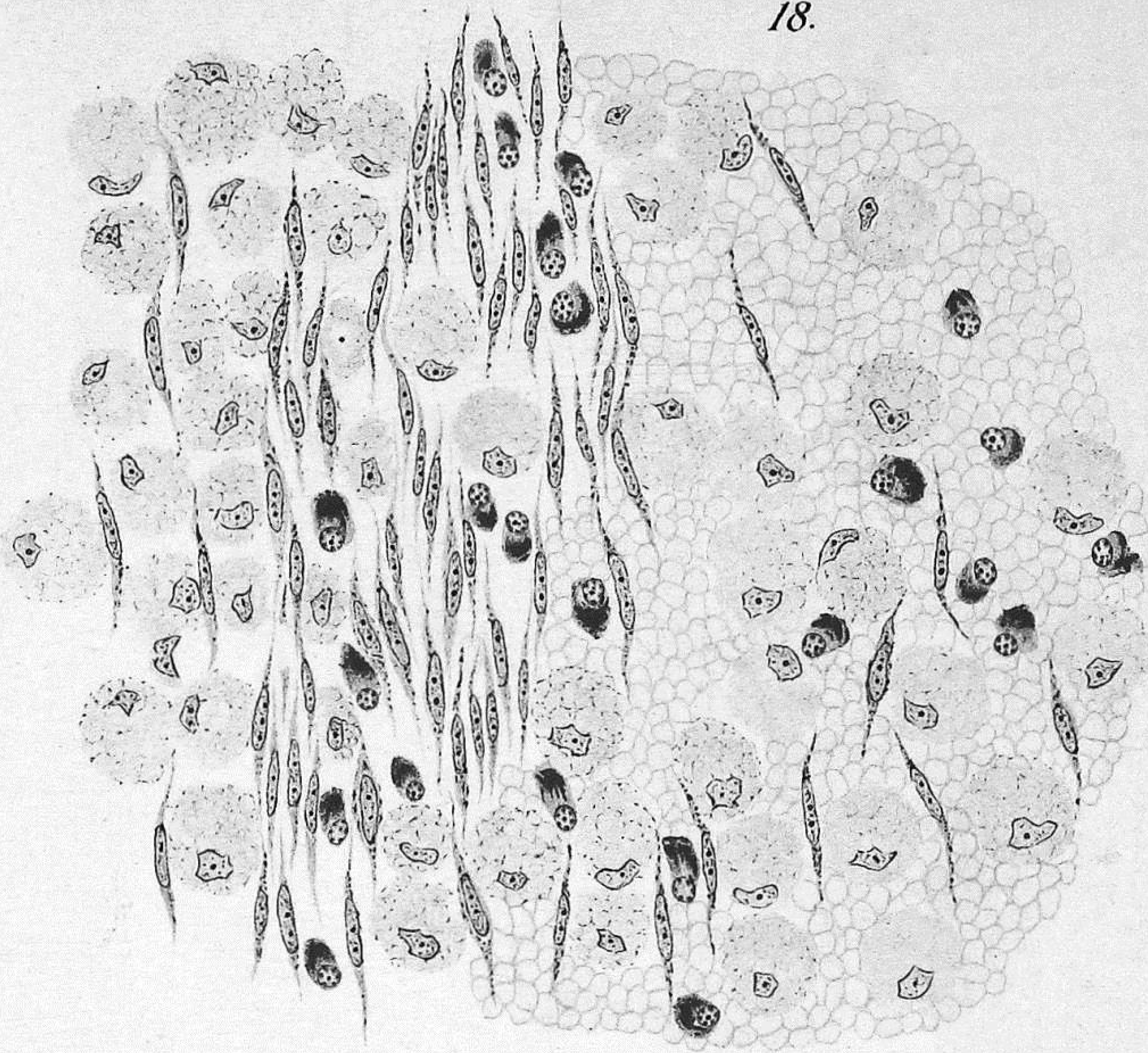
13.



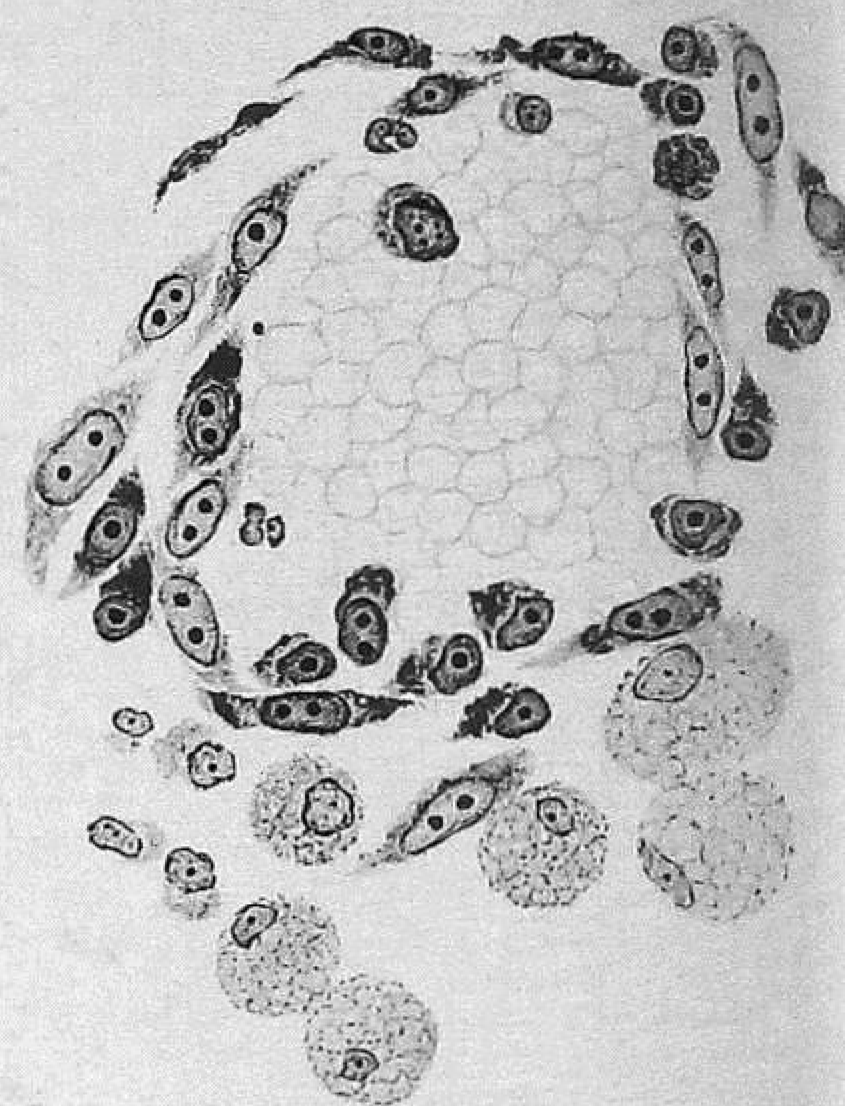
17.



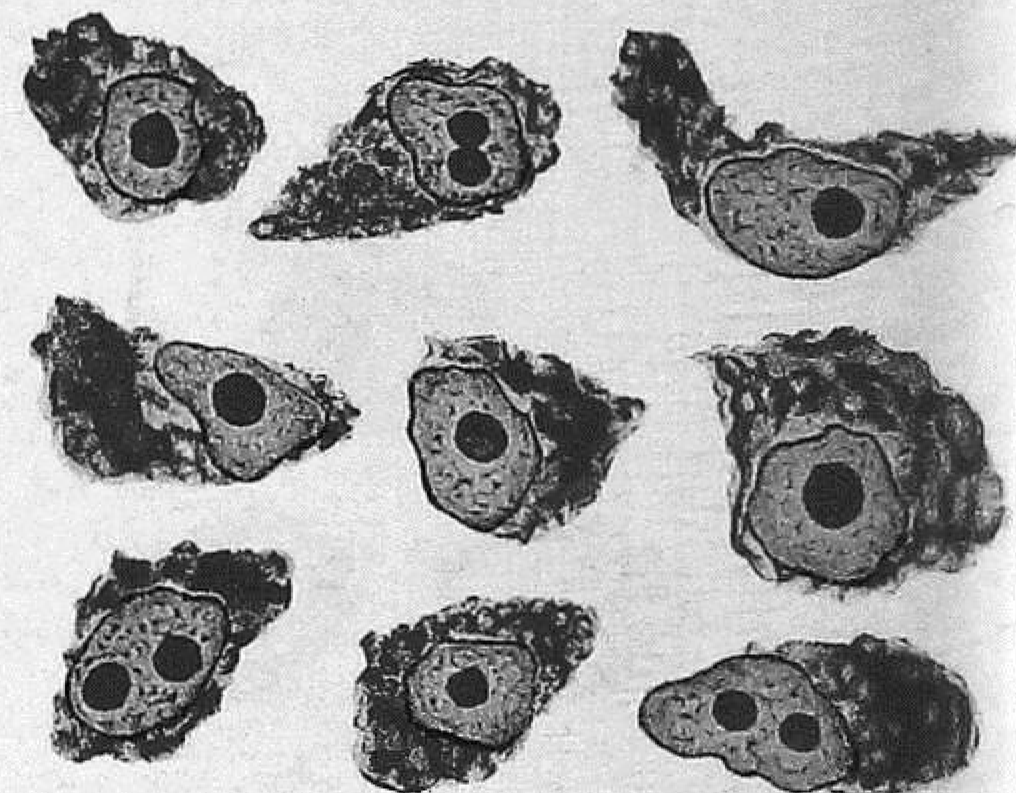
Firenze, Lit. A. Ruffoni, Piazza S. Croce 20



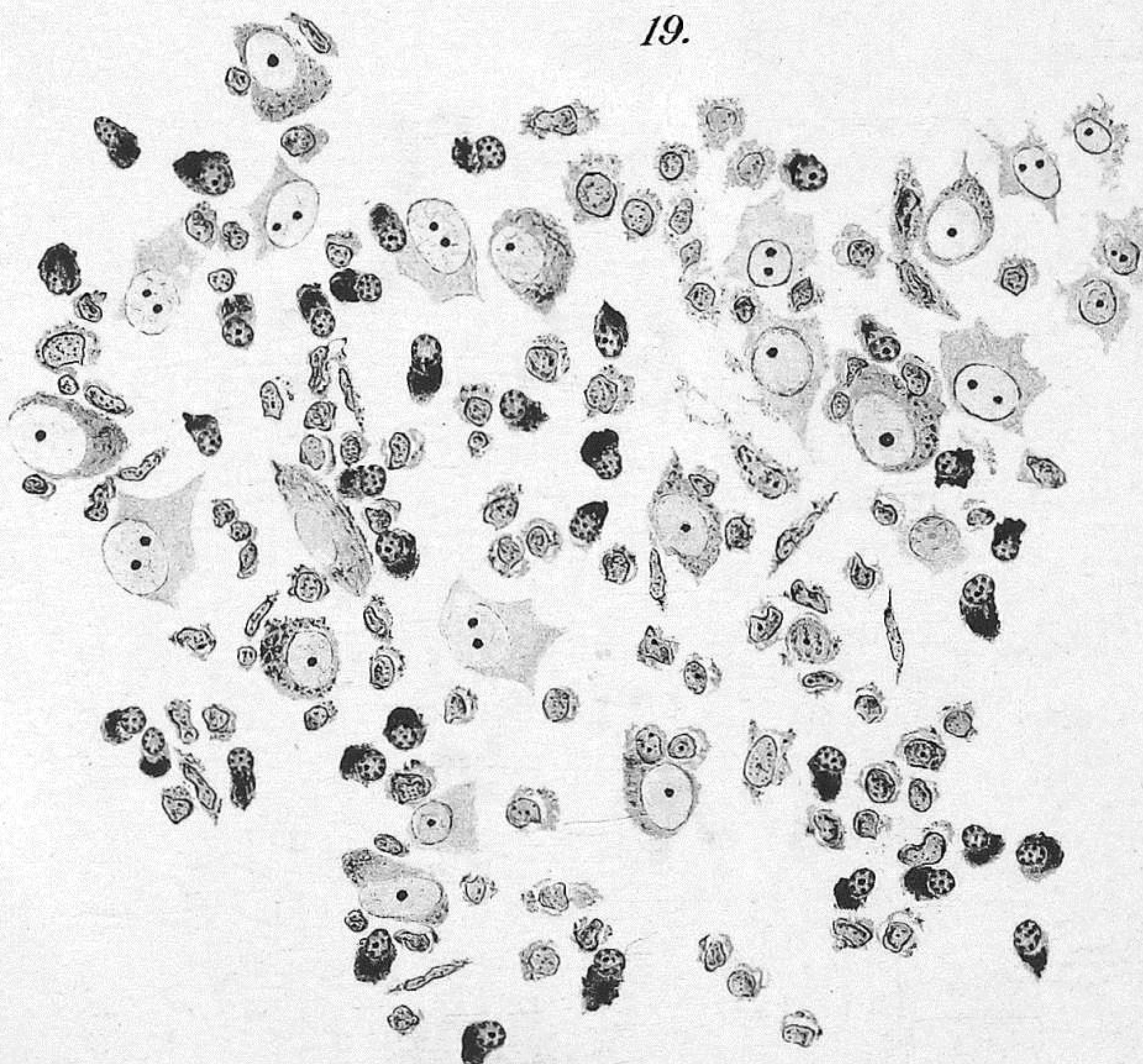
18.



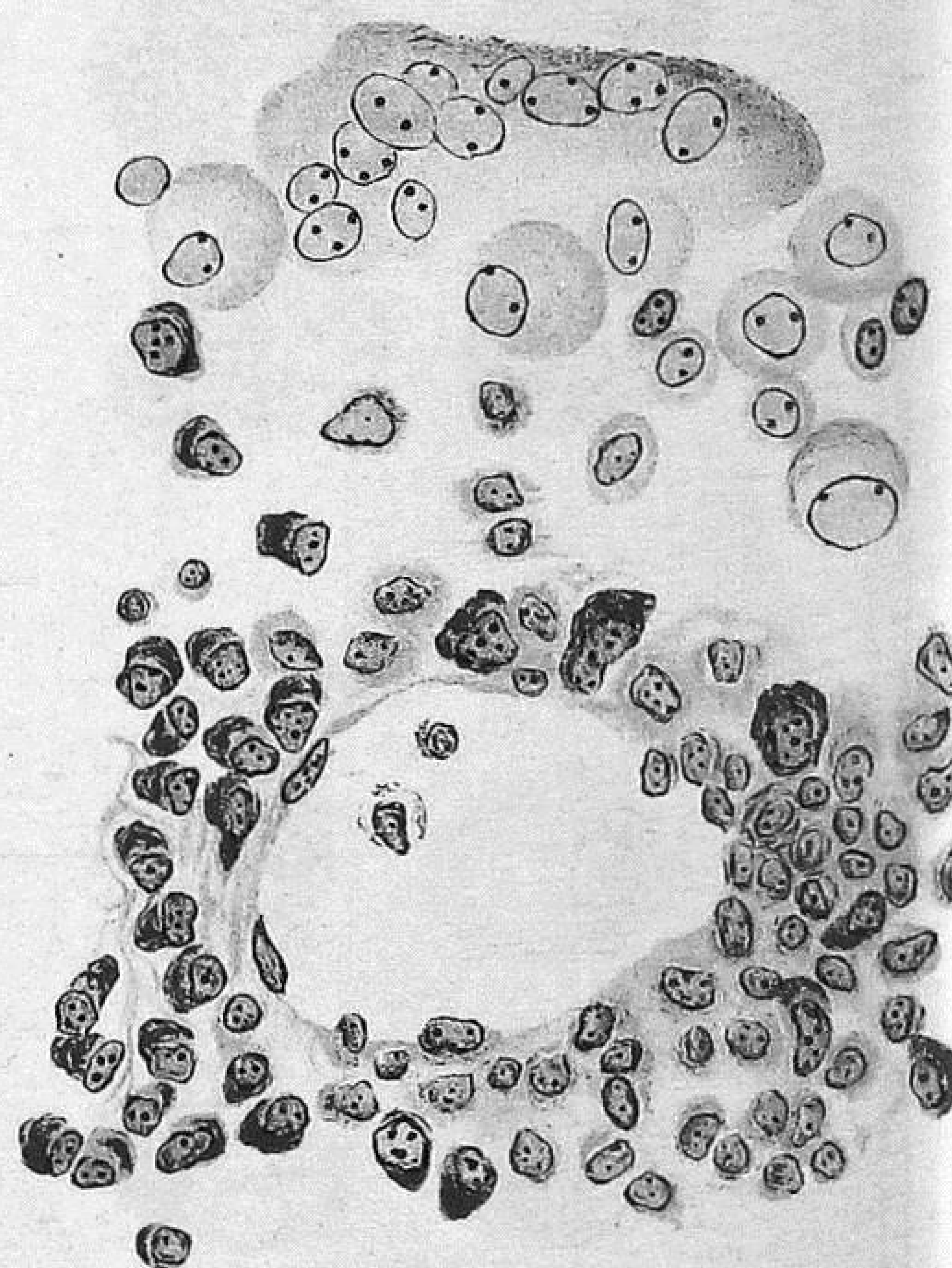
20.



21.



19.

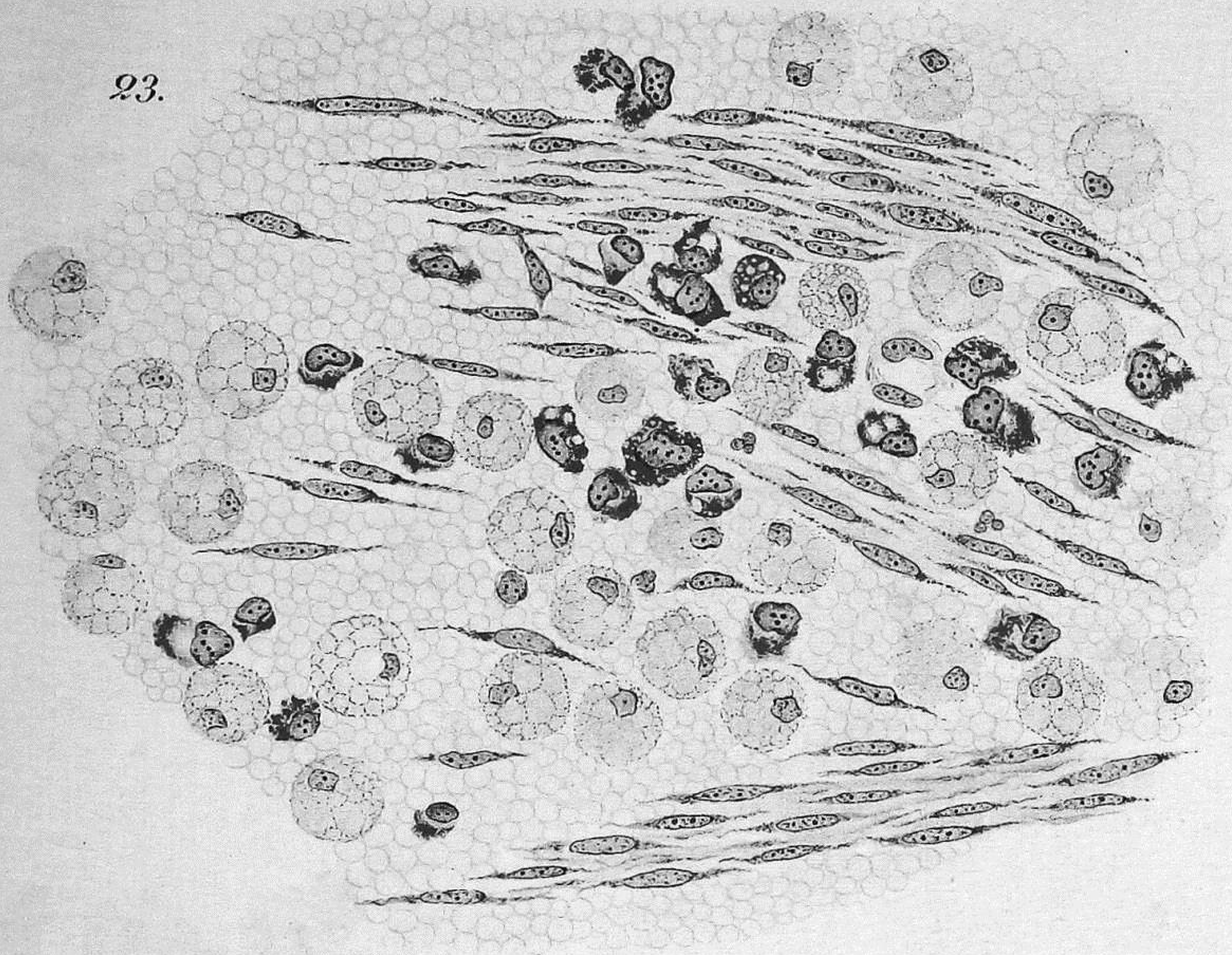


22

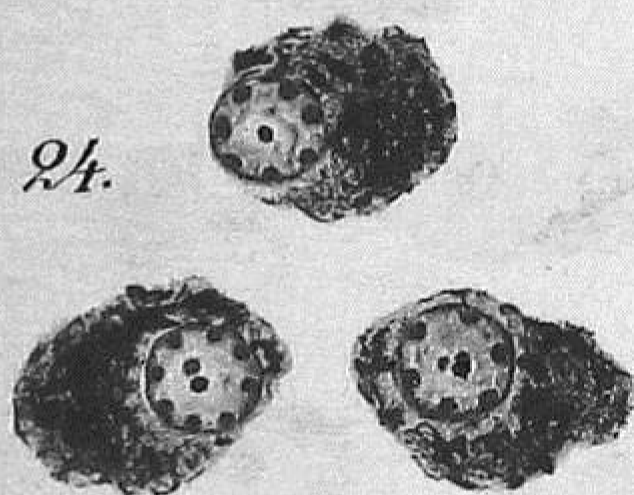
G. Papadia dis.

Papadia — *Le pseudoplasmacellule.*

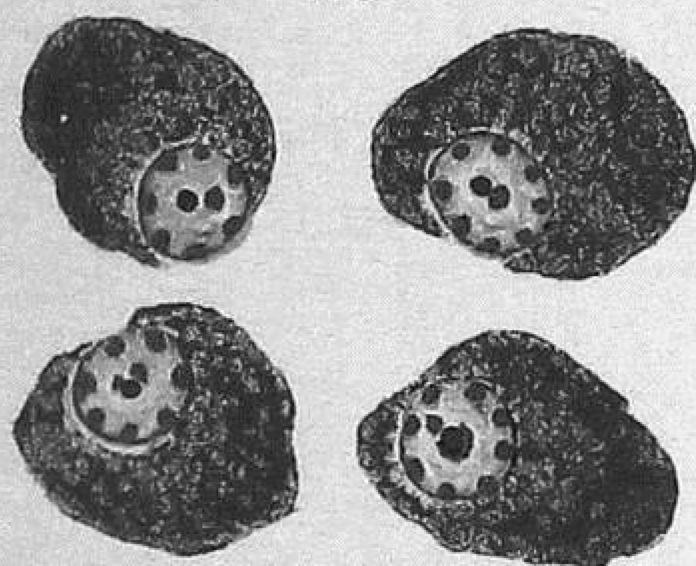
23.



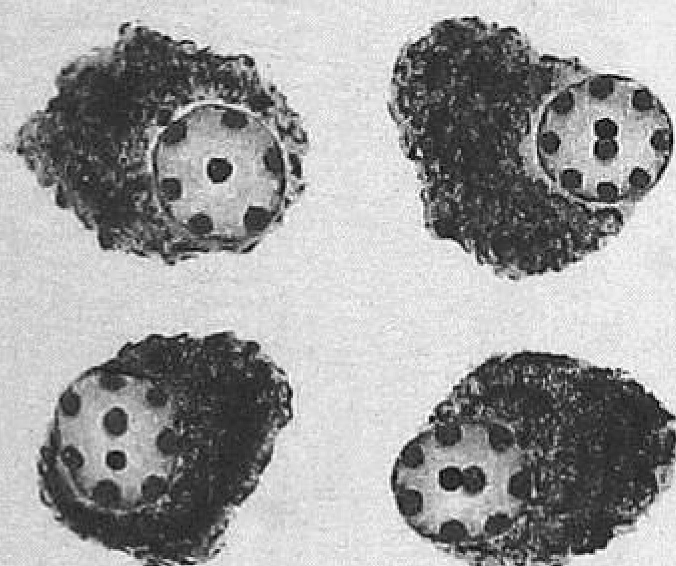
24.



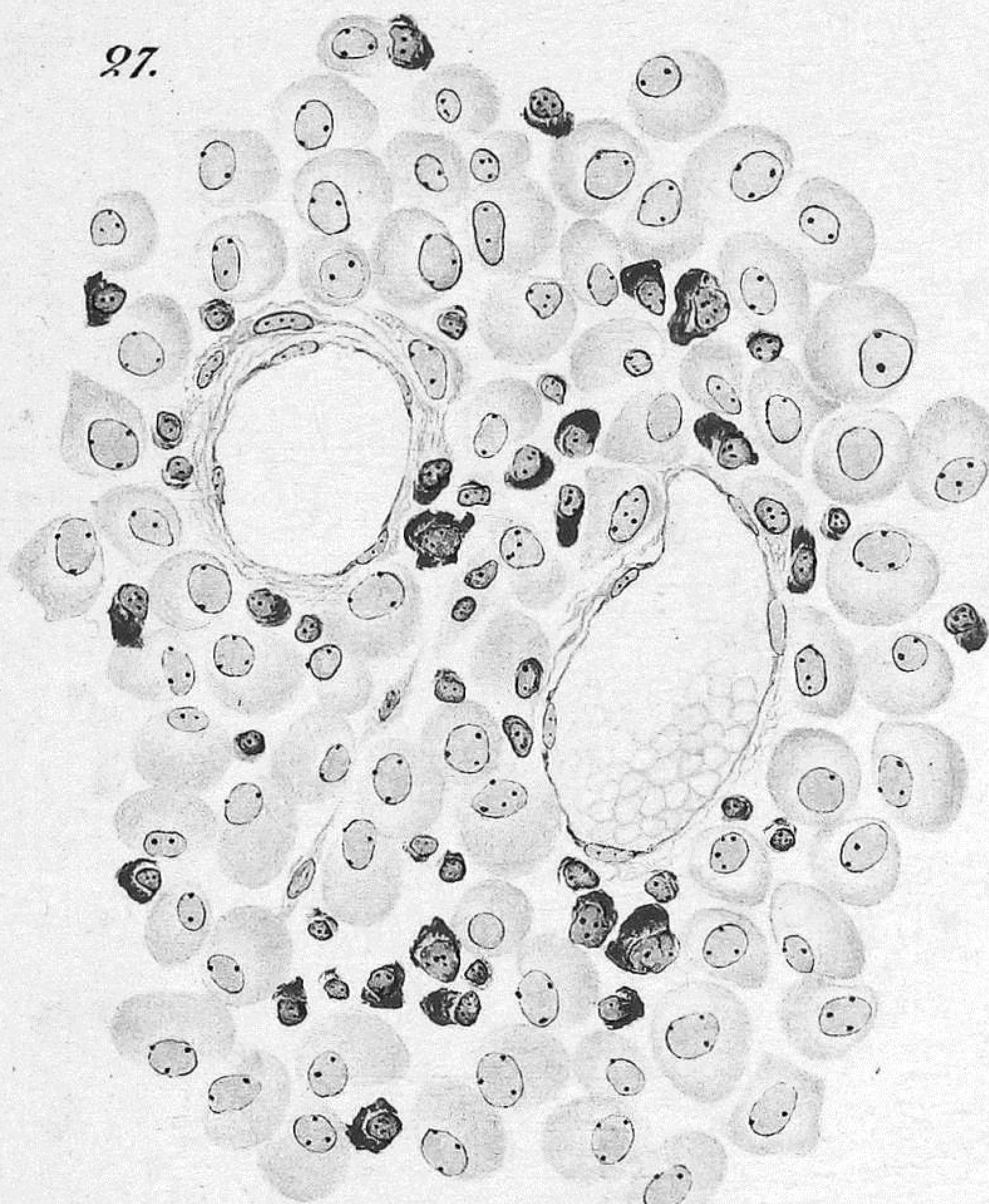
25.



26.



27.



Firenze, Lit. A. Ruffoni, Piazza S. Croce 20